

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2002年12月5日 (05.12.2002)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 02/097084 A1

(51) 国際特許分類: C12N 15/00, C12M 1/00, C07B 63/00, C07H 21/00, C07K 1/22

(72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 明石 照久 (AKASHI, Teruhisa) [JP/JP]; 〒300-0013 茨城県土浦市神立町502番地 株式会社日立製作所 機械研究所内 Ibaraki (JP). 池田由紀子 (IKEDA, Yukiko) [JP/JP]; 〒300-0013 茨城県土浦市神立町502番地 株式会社日立製作所 機械研究所内 Ibaraki (JP). 長岡 嘉浩 (NAGAOKA, Yoshihiro) [JP/JP]; 〒300-0013 茨城県土浦市神立町502番地 株式会社日立製作所 機械研究所内 Ibaraki (JP). 渡部 成夫 (WATANABE, Naruo) [JP/JP]; 〒300-0013 茨城県土浦市神立町502番地 株式会社日立製作所 機械研究所内 Ibaraki (JP). 宮原 裕二 (MIYAHARA, Yuji) [JP/JP]; 〒312-8504 茨城県ひたちなか市市毛882番地 株式会社日立製作所 計測器グループ内 Ibaraki (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP02/05079

(22) 国際出願日: 2002年5月24日 (24.05.2002)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2001-156512 2001年5月25日 (25.05.2001) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社 日立製作所 (HITACHI, LTD.) [JP/JP]; 〒101-8010 東京都千代田区神田駿河台四丁目6番地 Tokyo (JP).

[続葉有]

(54) Title: APPARATUS FOR PURIFYING NUCLEIC ACID AND METHOD OF PURIFYING NUCLEIC ACID

(54) 発明の名称: 核酸精製装置および核酸精製方法

(57) Abstract: It is intended to provide an apparatus for purifying a nucleic acid which can be easily automated and by which a high contact frequency can be achieved between a nucleic acid in a specimen with a solid phase in the step of capturing the nucleic acid even at a low nucleic acid concentration, thereby establishing a high nucleic acid capturing efficiency. This apparatus for purifying chemicals containing a nucleic acid is provided with means of separating a solution containing the nucleic acid from a sample due to centrifugal force; means of supplying a reagent due to centrifugal force; means of mixing the reagent supplied due to centrifugal force with the solution containing the nucleic acid to give a liquid mixture; a support for capturing the nucleic acid; means of passing the liquid mixture through the support due to centrifugal force; means of passing a reagent different from the above reagent through the support due to centrifugal force; means of heating the support; and means of holding the reagent containing the nucleic acid eluted from the support separately from the other reagent due to centrifugal force.

(57) 要約:

自動化が容易であり、核酸の濃度が低濃度の場合であっても、核酸捕捉工程における検体中の核酸と固相との接触頻度が高く、もって、核酸の捕捉率が高い核酸精製装置を提供する。そのため、核酸を含む化学物質の精製装置は、遠心力で核酸を含む溶液を試料から分離させる手段と、遠心力で試薬を送液させる手段と、遠心力で送液させた試薬と核酸を含む溶液とを混合させ混合液とする手段と、核酸を捕捉するための担体と、前記混合液を担体に遠心力によって通液させる手段と、遠心力で先の試薬とは別の試薬を前記担体に通液させる手段と、担体を加熱する手段と、担体から溶離した核酸を含有する試薬を遠心力によって他の試薬と区別して保持できる手段とを備える。

WO 02/097084 A1



(74) 代理人: 小川 勝男 (OGAWA,Katsuo); 〒103-0025 東京都 中央区 日本橋茅場町二丁目 9 番 8 号 友泉茅場町ビル 日東国際特許事務所 Tokyo (JP).

添付公開書類:

— 國際調査報告書 —

(81) 指定国(国内): CN, JP, KR, US.

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(84) 指定国(広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

明細書

核酸精製装置および核酸精製方法

技術分野

本発明は、核酸精製装置及び核酸精製方法に関する。

5 背景技術

分子生物学の進歩によって、遺伝子に関する数々の技術が開発され、それらの技術により、より多くの疾患性の遺伝子が分離され、かつ、同定することが可能になった。その結果、医療分野でも、診断あるいは検査法に、この分子生物学的な技術法が導入され、従来では不可能であった診断が可能とな¹⁰ってきており、また、その検査のために必要な日数についても、大幅な短縮が達成されつつある。

このような進歩は、核酸増幅法、特に、ポリメラーゼ連鎖反応 (P C R (Polymerase Chain Reaction) 法と称される) の実用化によるところが大きい。この P C R 法によれば、溶液中の核酸を配列特異的に増幅することが可能である。そのため、例えば、血清中に極微量しか存在しないウイルスの有無について、この P C R 法でそのウイルスの遺伝子である核酸を増幅して検出することで、間接的に証明することができる。しかしながら、この P C R 法を臨床の場における日常検査に使用する場合には、幾つかの問題が存在する。その中でも、特に P C R 法を用いた評価の前処理である、所謂、核酸¹⁵の精製能力は非常に重要であり、そのため、この核酸の精製に関しては、幾つかの手法が提案されている。

第 1 の先行技術として、例えば、特開平 2-289596 号公報に記載されるように、カオトロピック物質の存在下で核酸と結合することが可能なシ

シリカ粒子を核酸結合用固相として使用し、核酸が結合した固相を液体から分離し、その後、この固相と核酸（固相・核酸）の複合体を洗浄して、もって、必要に応じて核酸をその複合体から溶離する方法が示されている。

また、第2の先行技術として、例えば、特開平8-320274号公報には、单一試料のための多数の容器と、着脱自在な多数の分注チップと、フィルタと、そして、磁性体粒子とを用いて、核酸を抽出、回収、単離する方法が示されている。

さらに、第3の先行技術として、例えば、特表2000-514928号公報には、微細チャネル、チャンバー、キャビラリ、捨てバルブ等を形成したプラットホームを用いることにより、抗生物質検出や血液（全血）から血漿を分離し、さらには、微量液体を混合する方法が示されている。

しかし、上記した従来例に開示された方法を実際に適用した場合には、以下のようないくつかの問題点がある。

まず、前記第1の先行技術である特開平2-289596号公報に記載の方法では、同一デバイス内で核酸を回収できないため、その自動化が困難である。さらに、核酸とシリカ粒子との接触頻度を、短時間で上昇させることが困難である。特に、試料中に含まれる対象となる核酸の濃度が、例えば、 10^2 copy/ml のように、低濃度の場合には、接触頻度を短時間に上昇させることは非常に難しい。

また、前記第2の先行技術である特開平8-320274号公報に記載の方法では、核酸を抽出、回収、単離するための工程が煩雑であり、そのため、その自動化が困難である。さらに、この先行技術では、同一デバイス内でこれらの工程を処理できないために、コンタミネーションの問題も懸念される。

一方、この第2の先行技術では、チップが接続されるピペットは、サーボモータやパルスモータで吸引・吐出量を厳格に制御できるように、シリンダ（シリンジポンプ）とつながっていることが示されている。そのため、試料

の十分な吸引・吐出を確保するためには、シリカメンプランフィルタの密度を高くすることは出来ない。他方、通液性に ↑ 低密度のシリカメンプランフィルタを適用すれば、核酸を捕捉する確率に、自ずと小さくなる。特に、試料中に含まれる対象となる核酸が、上述したような 1.0^2 copy/ml 程度の

5 低濃度である場合には、試料がシリカメンプランフィルタを通った時、このシリカメンプランフィルタと核酸との接触頻度は、さらに、低くなる。

また、前記第3の先行技術である特表2000-514928号公報には、 $1.50 \mu\text{L}$ 程度の微量の血液からの血漿の分離方法が示されている。しかしながら、この公報には、核酸を精製する方法や技術については、何ら示され

10 ていない。

そこで、本発明の目的は、自動化が容易であり、核酸の濃度が 1.0^2 copy/ml 程度の低濃度の場合でも、核酸捕捉工程において、試料中の対象となる核酸と固相との接触頻度を高くし、もって、核酸の捕捉率の高い核酸自動精製装置とその精製方法、更には、それを構成する核酸精製構造体、そして、それを利用した遺伝子分析装置や化学物質精製構造体を提供することにある。

発明の開示

本発明によれば、上記の目的を達成するため、まず、核酸を含有する試料から核酸を精製する装置であって：遠心力で核酸を含む溶液を前記試料から分離させる手段と；遠心力で試薬を送液させる手段と；遠心力で送液させた前記試薬と前記核酸を含む溶液との混合液とする手段と；前記核酸を捕捉する担体と；前記混合液を前記担体に遠心力により通液させる手段と；遠心力で前記試薬とは別の試薬を前記担体に通液させる手段と；前記担体の加熱手段と；そして、前記担体から溶離した前記核酸を含む試薬を異なる遠心力に

より他の試薬と区別して保持する保持手段とを備えたことを特徴とする核酸精製装置が提供される。

また、本発明によれば、核酸を含有する試料から核酸を精製する装置であって：遠心力で核酸を含む溶液を前記試料から分離させる手段と；試薬を保持する試薬保持手段と；前記試薬保持手段から遠心力で前記試薬を送液させる手段と；遠心力で送液させた前記試薬と前記核酸を含む溶液との混合液とする手段と；前記核酸を捕捉する担体と；前記混合液を前記担体に遠心力により通液させる手段と；遠心力で前記試薬とは別の試薬を前記担体に通液させる手段と；前記担体の加熱手段と；そして、前記担体から溶離した前記核酸を含む試薬を異なる遠心力により他の試薬と区別して保持する保持手段とを備えたことを特徴とする核酸精製装置が提供される。

また、本発明によれば、核酸を含有する試料から核酸を精製する装置であって：遠心力で核酸を含む溶液を前記試料から分離させる手段と；遠心力で試薬を送液させる手段と；遠心力で送液させた前記試薬と前記核酸を含む溶液との混合液とする手段と；前記核酸を捕捉する担体と；前記混合液を前記担体に遠心力により通液させる手段と；遠心力で前記試薬とは別の試薬を前記担体に通液させる手段と；前記担体の加熱手段と；そして、前記担体から溶離した前記核酸を含む試薬を異なる遠心力により他の試薬と区別して保持する保持手段とを備えたデバイスと、そして、前記デバイスの外部から前記試薬を供給する供給手段とを備えたことを特徴とする核酸精製装置が提供される。

また、本発明によれば、核酸を含有する試料から核酸を精製する装置であって：一方をゴムシールされた孔を備えた円形状の表蓋と；前記表蓋との間で形成される空隙と；前記空隙に在り、前記試料から核酸を含む溶液を分離する分離ゲルと前記溶液の定量化をおこなう溝とを備えた円形状の第一のディスクと；試薬を備えた試薬溜めと、流路と、核酸を結合させる担体と、前

記試薬のうち核酸を溶離させた後の溶離液を溜める溶離液溜めと、前記溶離液溜めに続いて設けられ、外部に開放された流路を備えた前記溶離液以外の試薬を溜める廃液溜めとを備えた円形状の第二のディスクと；そして、加熱体を備えた円形状の裏蓋とを有し、前記裏蓋と、前記第二のディスクと、前記第一のディスクと、前記表蓋とを、順次、積層して成るデバイスを構成すると共に、前記デバイス内の所定位置での穿孔により前記溶液および前記試薬が孔を通って前記デバイスの厚み方向に通液する穿孔部を有することを特徴とする核酸精製装置が提供される。

なお、本発明によれば、上記の構成において、前記第二のディスクの前記溶離液溜めと前記廃液溜めとの間にU字型流路を設け、前記第二のディスクの前記溶離液溜めと前記廃液溜めとの間に、前記デバイスの厚み方向に分岐する分岐流路を設け、あるいは、前記第二のディスクの前記溶離液溜めと前記廃液溜めとの間に、前記担体よりも通液の低いフィルタを設けることもできる。

また、本発明によれば、やはり上記の目的を達成するため、核酸を含有する試料から核酸を精製する方法であって：円形状の複数のディスクを積層して形成されるデバイスの内部に設けられた第一の空隙内で分離ゲルを用いて、核酸を含む溶液を前記試料から遠心力で分離する工程と；前記デバイス内に第一の孔を設けることで前記溶液を定量化する工程と；前記デバイス内に第二の孔を設けることで前記定量化された溶液を前記デバイス内部の第二の空隙である流路に送液する工程と；前記デバイス内に第三の孔を設け、結合液である第一の試薬を前記流路に遠心力で送液する工程と；前記流路内で前記定量化された溶液と前記結合液との混合液を生成する工程と；前記結合液を前記核酸を捕捉する担体に遠心力で通液し、前記デバイス内部の第三の空隙である廃液溜めに送液する工程と；前記デバイス内に第四の孔を設け洗浄液である第二の試薬を前記流路に遠心力で送液する工程と；前記洗浄液を前記

担体に遠心力で通液し、前記廃液溜めに送液する工程と；前記デバイス内に第五の孔を設け溶離液である第三の試薬を前記流路に遠心力で送液する工程と；前記溶離液を前記担体に保持させて、前記担体を加熱する工程と；前記担体から溶離した前記核酸を含む前記溶離液を担体に続く流路に形成された溶離液溜めに遠心力で送液し、他の試薬と区別して保持する工程と；そして、前記デバイスの外部より前記溶離液を前記溶離液溜めから回収する工程とを含む核酸精製方法が提供される。

また、本発明によれば、回転可能に形成される核酸精製構造体であって：核酸を含む流体が供給される供給部と；前記供給された流体中の核酸が捕捉される核酸捕捉部と；前記核酸捕捉部に洗浄液が供給される洗浄液供給部と；前記核酸捕捉部を流過した前記洗浄液が廃棄される廃棄部と；前記核酸捕捉部に溶離液が供給される溶離液供給部と；そして、前記核酸捕捉部を流過し、前記核酸捕捉部で補足された核酸を前記核酸捕捉部から離して内部に含む溶離液を保持する溶離液保持部とを備え、前記溶離液保持部は、前記核酸捕捉部と前記廃棄部とを連絡する流路に形成されることを特徴とする核酸精製構造体が提供される。

また、本発明によれば、回転可能に形成される核酸精製構造体であって：核酸を含む流体が供給される供給部と；前記供給された流体中の核酸が捕捉される核酸捕捉部と；前記核酸捕捉部に洗浄液が供給される洗浄液供給部と；前記核酸捕捉部を流過した前記洗浄液が廃棄される廃棄部と；前記核酸捕捉部に溶離液が供給される溶離液供給部と；そして、前記核酸捕捉部を流過し、前記核酸捕捉部で補足された核酸を前記核酸捕捉部から離して内部に含む溶離液を保持する溶離液保持部とを備え、前記溶離液保持部は、前記核酸捕捉部の下流に形成され、前記廃棄部は、前記溶離液保持部の下流に形成されることを特徴とする核酸精製構造体が提供される。

また、本発明によれば、回転可能に形成される核酸精製構造体であって：核酸を含む流体が供給される供給部と；前記供給された流体中の核酸が捕捉される核酸捕捉部と；前記核酸捕捉部に洗浄液が供給される洗浄液供給部と；前記核酸捕捉部を流過した前記洗浄液が廃棄される廃棄部と；前記核酸捕捉部に溶離液が供給される溶離液供給部と；そして、前記核酸捕捉部を流過し、前記核酸捕捉部で補足された核酸を前記核酸捕捉部から離して内部に含む溶離液を保持する溶離液保持部とを備え、前記溶離液保持部は、前記核酸捕捉部の外周側に形成され、前記廃棄部は、前記溶離液保持部の外周側に形成されることを特徴とする核酸精製構造体が提供される。

10 また、本発明によれば、回転可能に形成される核酸精製構造体であって：核酸を含む流体が供給される供給部と；前記供給された流体中の核酸が捕捉される核酸捕捉部と；前記核酸捕捉部に洗浄液が供給される洗浄液供給部と；前記核酸捕捉部を流過した前記洗浄液が廃棄される廃棄部と；前記核酸捕捉部に溶離液が供給される溶離液供給部と；前記核酸捕捉部を流過し、前記核酸捕捉部で補足された核酸を前記核酸捕捉部から離して内部に含む溶離液を保持する溶離液保持部と；そして、前記溶離液保持部と前記廃棄部を連絡する廃液流路とを備え、前記廃液流路は、前記溶離液保持部の最内周側の領域より外周側に位置する領域に連絡する保持部連絡部と、前記連絡部の下流に位置し、前記連絡部より内周側に位置する内周側領域部と、前記内周側領域部の下流に位置し、前記内周側領域部より外周側に位置する前記廃棄部に連絡する廃棄部連絡部とを有することを特徴とする精製構造体が提供される。

15 また、本発明によれば、回転可能に形成される核酸精製構造体であって：核酸を含む流体が供給される供給部と；前記供給された流体中の核酸が捕捉される核酸捕捉部と；前記核酸捕捉部に洗浄液が供給される洗浄液供給部と；前記核酸捕捉部を流過した前記洗浄液が廃棄される廃棄部と；前記核酸

20

25

捕捉部に溶離液が供給される溶離液供給部と；前記核酸捕捉部を流過し、前記核酸捕捉部で補足された核酸を前記核酸捕捉部から離して内部に含む溶離液を保持する溶離液保持部と；そして、前記溶離液保持部と前記廃棄部を連絡する廃液流路とを備え、前記溶離液保持部と前記廃液流路との接続部は、

5 前記廃液流路の最内周部より外周側であって、前記廃液流路の最外周部より内周側に形成されることを特徴とする核酸精製構造体が提供される。

また、本発明によれば、回転可能に形成される核酸精製構造体であって：核酸を含む流体が供給される供給部と；前記供給された流体中の核酸が捕捉される核酸捕捉部と；前記核酸捕捉部に第一の試薬が供給される第一の試薬

10 供給部と；前記核酸捕捉部を流過した前記第一の試薬が廃棄される廃棄部と；前記核酸捕捉部に前記第一の試薬よりも前記核酸捕捉部で捕捉された前記核酸を前記核酸捕捉部から離す作用が大きい第二の試薬が供給される第二の試薬供給部と；前記核酸捕捉部を流過し、前記核酸捕捉部で捕捉された核酸を前記核酸捕捉部から離して内部に含む前記第二の試薬を保持する第二の

15 試薬保持部と；そして、前記第二の試薬保持部と前記廃棄部を連絡する廃液流路とを備え、前記廃液流路の最内周部と前記第二の試薬保持部との接続部までの領域と、前記第二の試薬保持部の前記最内周部より外周側に位置する領域との合計の容積は、前記供給される第一の試薬より小さく、前記供給される第二の試薬より大きくなるよう形成されることを特徴とする核酸精製構

20 造体が提供される。

また、本発明によれば、回転可能に形成される核酸精製構造体であって：核酸を含む流体が供給される供給部と；前記供給された流体中の核酸が捕捉される核酸捕捉部と；前記核酸捕捉部に洗浄液が供給される洗浄液供給部と；前記核酸捕捉部を流過した前記洗浄液が廃棄される廃棄部と；前記核酸

25 捕捉部に溶離液が供給される溶離液供給部と；前記核酸捕捉部を流過し、前記核酸捕捉部で補足された核酸を前記核酸捕捉部から離して内部に含む溶離

液を保持する溶離液保持部と；そして、前記溶離液保持部と前記廃棄部を連絡する廃液流路とを備え、前記廃液流路の最内周部と前記溶離液保持部との接続部までの領域と、前記溶離液保持部の前記最内周部より外周側に位置する領域との合計の容積は、前記供給される洗浄液より小さく、前記供給される溶離液より大きくなるよう形成されることを特徴とする核酸精製構造体が提供される。

また、本発明によれば、上記に記載の核酸精製構造体を収容する収容部と、前記核酸精製構造体を回転させる回転駆動機構とを備えることを特徴とする核酸精製装置が提供される。

また、本発明によれば、上記に記載の核酸精製装置であって、前記核酸精製構造体の前記溶離液保持部に導いた前記核酸を用いて、前記核酸の遺伝子を分析する分析機構を備えることを特徴とする遺伝子分析装置が提供される。

また、本発明によれば、上記に記載の核酸精製装置であって、前記核酸精製構造体の前記溶離液保持部に導いた前記核酸を加温する加温装置を備えることを特徴とする核酸精製装置が提供される。

また、本発明によれば、上記に記載の核酸精製装置であって、前記廃液流路の最内周部と前記溶離液保持部との接続部までの領域と、前記溶離液保持部の前記最内周部より外周側に位置する領域との合計の容積より多い量の前記洗浄液が前記核酸捕捉部から前記溶離液保持部を経て前記廃液部に保持されるよう制御し、前記廃液流路の最内周部と前記溶離液保持部との接続部までの領域と、前記溶離液保持部の前記最内周部より外周側に位置する領域との合計の容積より少ない量の前記溶離液が前記核酸捕捉部を経て前記溶離液保持部に保持されるよう制御されることを特徴とする核酸精製装置が提供される。

そして、本発明によれば、さらに、上記の目的を達成するため、化学物質精製構造体であって：第一の化学物質を含む流体が供給される供給部と；前

記供給された流体中の前記化学物質が捕捉される第一の化学物質捕捉部と；
前記第一の化学物質捕捉部に第一の試薬が供給される第一の試薬供給部と；
前記第一の化学物質捕捉部を通過した前記第一の試薬が廃棄される廃棄部
と；前記第一の化学物質捕捉部に前記第一の化学物質捕捉部から前記第一的
5 化学物質を離す作用が前記第一の試薬より大きい第二の試薬が供給される第
二試薬供給部と；そして、前記第一の化学物質捕捉部を通過し、前記第一の
化学物質捕捉部で補足された第一の化学物質を前記第一の化学物質捕捉部か
ら離して内部に含む前記第二の試薬を保持する第二の試薬保持部とを備え、
前記第二の試薬保持部は、前記第一の化学物質保持部と前記廃棄部とを連絡
10 する流路に形成されることを特徴とする化学物質精製構造体が提供される。
なお、本発明では、洗浄液は、前記核酸保持部にある核酸以外の不純物を
除去し、溶離液は前記核酸保持部に保持された核酸を前記捕捉部から離して
自身内に含有する作用を有する流体であることを示しており、溶離作用に限
定するものではない意味として用いられており、洗浄液よりも、むしろ、核
15 酸を前記捕捉部から離す作用が大きい。

図面の簡単な説明

第1図は、本発明の一実施例であるディスクデバイスの斜視図であり；
第2図は、上記本発明のディスクデバイスにおける、表面側蓋の平面図で
あり；
20 第3図は、上記本発明のディスクデバイスにおける、第一層ディスクの表
側の平面図であり；
第4図は、上記本発明のディスクデバイスにおける、第二層ディスクの表
側の平面図であり；
第5図は、上記本発明のディスクデバイスにおける、第二層ディスクの裏
25 側の平面図であり；

第6図は、上記本発明のディスクデバイスにおける、裏面側蓋の平面図であり；

第7図は、上記第1図におけるディスクデバイスのa-a'断面図であり；

5 第8図は、上記本発明のディスクデバイスにおいて、ゲルを用いて血液から血清を分離する工程を示す、上記第一層ディスクの平面図であり；

第9図は、血液からの血清分離状況を示す、上記第1図におけるディスクデバイスのa-a'断面図であり；

10 第10図は、余剰血清を取り除くための工程を示す、上記第1図におけるディスクデバイスのa-a'断面図であり；

第11図は、定量化された血清を取り出すための工程を示す、上記第1図におけるディスクデバイスのa-a'断面図であり；

15 第12図は、定量化された血清と結合液とを混合した混合液を担体に通液させる工程を示す、上記第1図におけるディスクデバイスのa-a'断面図であり；

第13図は、混合液及び洗浄液を廃液溜めに送液する工程を示す、第二層ディスクの表側の平面図であり；

第14図は、溶離液を担体の位置に送液して核酸を溶離液に溶離させる工程を示す、上記第1図におけるディスクデバイスのa-a'断面図であり；

20 第15図は、担体を通液した溶離液を回収する工程を示す、上記第1図におけるディスクデバイスのa-a'断面図であり；

第16図は、本発明の核酸精製方法の工程を示すフロー図であり；

第17図は、本発明の他の（第2の）実施例になるディスクデバイスの構造及び核酸の精製方法を説明するためのディスクデバイスの断面図であり、

25 上記図1のa-a'断面に対応し；

第18は、上記第2の実施例になるディスクデバイスにおける溶離液を回収する工程を示すため、ディスクデバイスのa-a'断面図であり；

第19図は、本発明の更に他の(第3の)実施例になるディスクデバイスの構造および核酸の精製方法を説明するため、ディスクデバイスの第二層5ディスクの表側を示す平面図であり；

第20図は、上記の本発明になるディスクデバイスを適用した核酸精製装置の概略を示す図であり；

第21図は、本発明の実施例になる遺伝子分析装置の全体構成図であり；

第22図は、上記遺伝子分析装置における分析ディスクの構成を示す展開10斜視図であり；

第23図は、上記分析ディスクにおける流路を示すための斜視図であり；

第24図は、上記遺伝子分析装置における抽出及び分析動作の流れを示す15フロー図であり；

第25図は、やはり、上記遺伝子分析装置における抽出及び分析動作の流れを示す図であり；

第26図は、上記分析ディスクの流路内における、試料(血液)を含む液体の流動状態を示す図であり；

第27図は、やはり、上記分析ディスクの流路内における、試料を含む液体の流動状態を示す図であり；

第28図も、また、上記分析ディスクの流路内における、試料を含む液体の流動状態を示す図であり；

第29図も、やはり、上記分析ディスクの流路内における、試料を含む液体の流動状態を示す図であり；

第30図も、やはり、上記分析ディスクの流路内における、試料を含む液体の流動状態を示す図であり；

第3.1図も、やはり、上記分析ディスクの流路内における、試料を含む液体の流動状態を示す図であり；

第3.2図も、やはり、上記分析ディスクの流路内における、試料を含む液体の流動状態を示す図であり；

5 第3.3図も、やはり、上記分析ディスクの流路内における、試料を含む液体の流動状態を示す図であり；

第3.4図も、やはり、上記分析ディスクの流路内における、試料を含む液体の流動状態を示す図であり；

10 第3.5図も、やはり、上記分析ディスクの流路内における、試料を含む液体の流動状態を示す図であり；

第3.6図も、やはり、上記分析ディスクの流路内における、試料を含む液体の流動状態を示す図であり；

第3.7図も、やはり、上記分析ディスクの流路内における、試料を含む液体の流動状態を示す図であり；

15 第3.8図も、やはり、上記分析ディスクの流路内における、試料を含む液体の流動状態を示す図であり；

第3.9図は、上記実施例における保持ディスクの回転位置を検出する構成の一例を示す図であり；そして、その構成における各部の記号は

第4.0図は、上記実施例における穿孔機の動作タイミングの一例を示す動

20 作波形図である。

以下、本発明の実施例として、本発明の構成、動作、動作タイミング等を示す。

発明を実施するための最良の形態、すなはち、本発明の実施例として、本発明の

以下、添付の図面を参照しながら、本発明の実施例について詳細に説明す

る。

ここでは、まず、本発明の一実施例として、血液（全血）に含まれた H C

25 Vウイルス、H I Vウイルス等の、所謂、リボ核酸（R N A）を精製するた

めに適用可能なディスクタイプのデバイスについて説明する。第1図から第7図を用い、第1の実施例になるデバイスの構造について説明し、加えて、第8図から第15図および第16図を用い、デバイスを用いたRNAの精製の方法について説明する。また、第17図および第18図によって、本発明5の他の実施例になる構造(第2の構造)およびそれを用いたRNAの精製方法について説明する。さらには、第19図によって、本発明の更に他の実施例になるデバイスの構造(第3の構造)およびそれを用いたRNAの精製の方法について説明し、そして、第20図により、本発明のディスクデバイスを用いた装置、すなわち、核酸精製装置について説明する。

10 第1図は、本発明における核酸精製装置の中心となる、ディスクデバイスの外観を示す斜視図である。ディスクデバイス1は、外形が円形ディスク形状で、その表面の蓋と裏面の蓋、さらには、その間に配置された二層の積層構造体により構成されている。具体的には、表面側蓋2と、第一層ディスク3と、第二層ディスク4と、そして、裏面側蓋5とから構成されている。また、表面側蓋2には、血液挿入ポート6と、核酸が精製された溶液である溶離液を回収するための溶離液回収ポート13とを含む、多数のポートが形成されている。さらに、ディスクデバイス1は、ディスクデバイス回転用の支持軸50に固定されている。なお、このディスクデバイス回転用支持軸50は、例えば電動モータなどに接続され、もって、ディスクデバイス1を回転20させる。

第2図は、本発明になる上記ディスクデバイス1の構成部品である、表面側蓋2の平面構造を示している。この表面側蓋2には、図にも示すように、血液挿入ポート6、バルブ(a)開口ポート7、バルブ(b)開口ポート8、バルブ(c)開口ポート9、バルブ(d)開口ポート10、バルブ(e)開口ポート11、バルブ(f)開口ポート12、そして、溶離液回収用ポート2513が、それぞれ、上記ディスクデバイス1の4つの象限(4分円)上の対

称位置に同じように形成されている。なお、この第2図に示したように（図1も同様）、4つの象限においては、それぞれ、ポートa～fが形成されているが、しかしながら、それらの代表として以下、第1象限の（セクタA）のポートについてのみ詳細に述べる。但し、他の（セクタB）、（セクタC）、（セクタD）についても同様であり、そのため、その詳細な説明はここでは省略する。

第2図において符号6～13が付された各ポートは、例えば、シリコンゴム等、厚手のゴムを接着剤等により固着させたフィルム状のシートを、表面側蓋2に設けられた孔に溶着させて蓋を形成することによって構成されている。なお、このゴムが固着したフィルム状のシートに、そのゴムを通してニードル（針）を刺し、その後、抜いた場合、このニードルの挿入によって形成された開口部は、その後、上記ゴムが本来有する弾性による自己復元力によって塞がれる。そのため、ディスクデバイス1の回転中に、このディスクデバイス1の内部に存在する液体が、その開口部から外部へと飛散することはない。

第3図は、本発明になる上記ディスクデバイス1の構成部品である、第一層ディスク3の平面構造を示している。この第一層ディスク3には、図にも示すように、同一形状の室が4つ、対称に区切られて形成されている（セクタA～D）。それぞれの室には、窪みになっている分離用空隙16と、この分離用空隙16と一緒に形成され、かつ、この分離用空隙16よりも深い窪みである溝（凹部）17と、凸形状に形成され、かつ、ディスクの外周部と同じ高さの複数の部分仕切り壁15（ここでは、各室毎に5個設けられ、これにより6つの小室に仕切られる）とが設けられている。前記部分仕切り壁15と前記外周部との間に挟まれて形成された略U字形の小室内には、それそれ、ゲル14が設けられ（すなわち、各室ごとに、6つのゲルが）、また、第一層ディスク3の中心部には、余った血清を送液させるためのバルブ

(a) 18と、溝17の底に設けられ、かつ、溝17に溜まった血清を送液させるためのバルブ (b) 19とが設けられている。その中間部には、前記分離用空隙16とは区別された孔である、所謂、バルブ (c) 開口用のニードル挿入孔20と、バルブ (d) 開口用のニードル挿入孔21と、バルブ
5 (e) 開口用のニードル挿入孔22と、そして、バルブ (f) 開口用のニードル挿入孔23とが形成され、さらに、部分仕切り壁15の一部には、溶離液回収用のチップ挿入孔24が形成されている。

以上に述べたように、本発明の実施例になるディスクデバイス1では、その内部において、4個の室(溶離室)が分割して形成されていることから、
10 4種類の試料、すなわち、4種類の血液を同時に導入することができる。しかしながら、この溶離室の数は、上記の4室に限られるものではなく、それ以下又はそれ以上であってもよい。なお、上記のバルブ (a) 18、バルブ (b) 19は、通常は閉じた状態のバルブである。さらに、これらのバルブは、第一層ディスク3と一緒に形成されており、かつ、これらの部分は、その他の部分と比べ、その厚さが非常に薄くなっている(なお、ディスクの断面構造については、後述する)。

第4図は、本発明になるディスクデバイス1の構成部品である、第二層ディスク4の表側の構造を示している。この第二層ディスク4においても、上記第一層ディスク3と同様に、4個の同一形状の室(セクタ)が対称に区切
20 られ形成されている。そして、各室(セクタ)には、それぞれ、血球分離操作によって余った血清を導入するための余剰血清溜め25、この余剰血清溜め25の中央部に設けられ、結合液(血清中に含まれる核酸を固相に結合させるための試薬)を溜めるための結合液溜め26、洗浄液(洗浄液A、洗浄液B:血清中に含まれる蛋白成分や結合液の成分が付着して汚れた固相を、
25 当該固相と結合した核酸を取り外すことなく、洗浄するための試薬)を溜めるための洗浄液A溜め27と洗浄液B溜め28、そして、溶離液(固相に結

合した核酸を溶離させる試薬)を溜めるための溶離液溜め29が設けられている。

そして、この第二層ディスク4には、その結合液溜め26内において、その内周方向に、第一層ディスク3で得られた血清をそれを介して移動するための孔である血清通液孔30が、また、結合液溜め26内の外周方向には、結合液を送液するためのバルブ(c)31が設けられている。さらに、洗浄液A溜め27内においては、その外周方向に、洗浄液A溜め27内にある洗浄液Aを送液するためのバルブ(d)32が設けられ、そして、洗浄液B溜め28内においては、その外周方向に、洗浄液B溜め28内にある洗浄液Bを送液するためのバルブ(e)33が設けられている。

また、溶離液溜め29内においては、その外周方向に、溶離液を送液するためのバルブ(f)34が設けられ、そして、ディスクの外周部には、上記第一層ディスク3に形成された溶離液回収用チップ挿入孔24とつながって、溶離液回収用チップ挿入部35が形成されている。

以上のように、本発明になるディスクデバイス1では、第一層ディスク3の下層に位置する第二層ディスク4においても、前記第一層ディスク3と対応するように、4つの室が形成されている。なお、バルブ(c)31、バルブ(d)32、バルブ(e)33、及び、バルブ(f)34は、通常は閉じた状態のバルブである。さらに、これらのバルブは、第二層ディスク4と一緒に形成されており、これらの部分は、その他の部分と比べ、その厚さが非常に薄くなっている。

第5図は、本発明になるディスクデバイス1の構成部品である、上記第二層ディスク4の裏側の構造を示している。この第二層ディスク4の裏面には、図にも示すように、そこから定量化された血清が流れ出る血清吐出口40と、血清と結合液とを混合してその混合液を送液し、かつ、洗浄液A、洗浄液B、溶離液を、それぞれ、送液する役割を担う混合用流路36とが設けられてい

る。また、この第二層ディスク4の裏面には、核酸を結合させるための固相である高密度のシリカ製の担体37が設けられ、血清と結合液との混合液、洗浄液A、そして洗浄液Bとがそこから送液され、他方、溶離液をそこに保持する溶離液回収用バルブ41が、その一部に形成された回収溶離液溜め42が設けられている。更には、血清と結合液との混合液、洗浄液Aおよび洗浄液Bが通液する、U字型をしたU字型流路38、血清と結合液との混合液、洗浄液Aおよび洗浄液Bが溜まる廃液溜め39、そして、血清と結合液との混合液、洗浄液Aおよび洗浄液Bが溜まるに従い、廃液溜め39内にある空気をディスクデバイス1の外部に排気するためのエア抜き用流路45が設けられている。

また、この第二層ディスク4の裏面には、前記エア抜き用流路45の一部に設けられ、血清、結合液、洗浄液A、洗浄液Bなどの成分が、ディスクデバイス1の外部にミストとして飛散しないためのトラップである、所謂、ミスト飛散防止フィルタ43が、そして、ディスクデバイス1の外部と接続された外部接続孔44が、それぞれ、各室（セクタ）に形成されている。

第6図は、本発明になるディスクデバイス1の構成部品である、裏面側蓋5の構造を示している。この裏面側蓋5には、図にも示すように、上記第二層ディスク4と同じ位置には、外部接続孔44が形成されている。また、上記第二層ディスク4に設けられた担体37に対応した位置には、その下側に、通電によって発熱して担体37の領域を所定の温度に加熱する担体加熱用の抵抗体46が配置されている。なお、これら4つの担体加熱用抵抗体46を電気的に直列接続するための配線47が設けられており、そして、これら4つの担体加熱用抵抗体46に通電を行うため、ディスクデバイス1の外部端子と接続するための、所謂、プラス電極48とマイナス電極49とからなる電極パッドが形成されている。

次に、第7図、第9図、第10図、第11図、第12図、第14図、そして、第15図は、上記ディスク1の断面図を示している。図7は、図1に示したディスクデバイス1のa-a'断面図である。また、この図7は、上記で説明した第2図、第3図、第4図、第5図、そして、第6図に示したa-a'断面と、それぞれ、対応している。即ち、ディスクデバイス1は、表面側蓋2、第一層ディスク3、第二層ディスク4、裏面側蓋5の順に積層されて形成されている。より具体的には、上記第2図に示した表面側蓋2、上記第3図に示した第一層ディスク3、上記第4図に示した第二層ディスク4の表側、上記第5図に示した第二層ディスク4の裏側、そして、上記第6図に示した裏面側蓋5の順番に、これらを、順次積層して形成されている。

第7図のa-a'断面において、表面側蓋2には、バルブ(a)開口ポート7、バルブ(b)開口ポート8、バルブ(c)開口ポート9、バルブ(f)開口ポート12、そして、溶離液回収ポート13が、それぞれ、形成されている。また、このa-a'断面に示す第一層ディスク3には、溝17を設けた分離用空隙16、バルブ(a)18、そして、バルブ(b)19が設けられ、さらには、バルブ(c)開口ポート9につながって設けられたバルブ(c)開口用ニードル挿入孔20、バルブ(f)開口ポート12につながって設けられたバルブ(f)開口用ニードル挿入孔23、そして、溶離液回収ポート13につながって設けられた溶離液回収用チップ挿入孔24が、それぞれ、形成されている。

また、このa-a'断面に示す第二層ディスク4には、余剰血清溜め25、結合液溜め26、溶離液溜め29、溝17に溜まった血清を通すための血清通液孔30、バルブ(c)31、バルブ(f)34、溶離液回収用チップ挿入孔24とつながって設けられた溶離液回収用チップ挿入部35、混合用流路36、担体37、廃液溜め39、溶離液回収用バルブ41、そして、回収溶離液溜め42が、それぞれ、設けられ又は形成されている。

このa-a'断面に示す裏面側蓋5には、担体加熱用抵抗体4-6が形成されている。さらに、上記表面側蓋2、上記第一層ディスク3、上記第二層ディスク4、そして、上記裏面側蓋5とを固着して形成されたディスクデバイス1は、裏面側蓋5の部分で、ディスクデバイス回転用支持軸50に接続固定されている。より詳しくは、このディスクデバイス1は、その中心がディスクデバイス回転用支持軸50の回転中心軸上に位置するように、支持軸50に接続固定されている。

本発明になるディスクデバイス1は、以上のような構成によって形成されている。なお、ここでも、その他の構成、例えば、バルブ(a)18、バルブ(b)19、血清通液孔30、バルブ(c)31、バルブ(f)34、そして、溶離液回収用バルブ41については、説明の重複を避けるため、セクタCの部分についてのみ説明したが、しかしながら、セクタAの対応する位置においても、全く同様であることは言うまでもない。

次に、上記にその構造を説明したディスクデバイス1を用いて、試料から核酸を精製する方法、より具体的には、血液から、例えば、HCVウイルス、HIVウイルス等のRNAを精製する方法について説明する。

はじめに、ディスクデバイス1を用いて血液から血清分離をする工程を説明する。第8図は、表面側蓋2の血液挿入ポート6にニードル管を刺して対象であるウイルスを含んだ血液を第一層ディスク3内に注入し、2000G程度の遠心力が発生するようにディスクデバイス1をモータで5分程度回転させ、その後、回転を止めて静止させた時の第一層ディスク3の状態を示している。

この状態において、各室では、比重が最も重い赤血球や白血球等から成る、所謂、血球類51が、分離用空隙16内の最外周部を満たし、他方、ウイルスを含む血清52が、ディスク中心部の分離用空隙16内に設けられた溝17を満たすようになり、そして、その間にゲル14が存在する配置関係とな

る。これは、ディスクデバイス 1 を回転させることによって血液に遠心力が加えられ、血液が遠心分離されたためである。より具体的には、ゲル 1 4 の比重が血球類 5 1 の比重よりも軽く、かつ、ウイルスを含む血清成分よりも重いため、遠心力が加えられた血球類 5 1 が、上記分離用空隙 1 6 の最外周部に設けられたゲル 1 4 の中を無理に通過してその最外周部に移動したためである。

さらに、ディスクデバイス 1 の回転を停止した場合には、血球類 5 1 には上記回転により印加された遠心力に相当する力がもはや加えられないため、血球類 5 1 がゲル 1 4 の中を通過してディスクの中央部に移動することはない。そのため、ディスクデバイス 1 の回転を停止させても、血球類 5 1 と、ウイルスを含む血清 5 2 とが互いに混じりあうことはない。なお、ディスクデバイス 1 に対する回転／静止の一連の操作が終了した後に、上記ゲル 1 4 が部分仕切り壁 1 5 の所定の位置で止まるように、当該部分仕切り壁 1 5 の長さを予め決めておくことが好ましい。

第 9 図は、上記第 8 図に示した状態における、ディスクデバイス 1 の a-a' 断面を示している。第一層ディスク 3 の分離用空隙 1 6 には、対象となるウイルスを含む血清 5 2 が満たされており、かつ、溝 1 7 にも同様に血清 5 2 が満たされている。また、第二層ディスク 4 の結合液溜め 2 6 には、結合液が満たされており、さらに、溶離液溜め 2 9 には、溶離液が満たされている。なお、この第 9 図には示されていないが、洗浄液 A 溜め 2 7 には洗浄液 A が満たされ、そして、洗浄液 B 溜め 2 8 には洗浄液 B が満たされている。ここでは、上記の結合液、溶離液、洗浄液 A、そして、洗浄液 B が、上記第二層ディスク 4 内に予め保持されているが、しかしながら、本発明ではこれに限られない。例えば、ニードル管が付属したビペットなどの外部機構により、必要に応じて、あるいは、工程に対応して、結合液、溶離液、洗浄液 A、又は、洗浄液 B を、バルブ (c) 開口ポート 9、バルブ (f) 開口ボ

ート 1 2、バルブ (d) 開口ポート 1 0 (図示せず)、又は、バルブ (e) 開口ポート 1 1 (図示せず) を通して、上記結合液溜め 2 6、溶離液溜め 2 9、洗浄液A溜め 2 7、又は、洗浄液B溜め 2 8に、それぞれ、その都度注入しても良い。

5 次に、第 1 0 図は、ニードル 5 3 を用いて、必要量以外の血清を、第二層ディスク 4 に設けられた余剩血清溜め 2 5 に送液するための工程を説明するための図である。この工程は次の通りである。

10 (1) 回転を停止したディスクデバイス 1 に、ニードル 5 3 をバルブ (a) 開口ポート 7 を通して挿入する。

(2) ニードル 5 3 でバルブ (a) 1 8 を突き破り、そのニードル 5 3 を引き抜く。

(3) 余剩血清が第二層ディスク 4 の余剩血清溜め 2 5 に流れる。これと同時に、分離用空隙 1 6 に設けられた溝 1 7 には、必要量の血清が溜められることとなる。

15 以上のようにして、必要量が定量化された血清を確保し、他方、余剰となった血清を第一層ディスク 3 の外部に排出する。なお、ニードル 5 3 が刺されて一旦開いたバルブ (a) 開口ポート 7 は、上述のように、そのゴムの弾性による自己復元力により塞がれる。また、溝 1 7 の体積は、予め必要量の血清が入る体積となっている。

20 次に、第 1 1 図は、ニードル 5 3 を用いて、ウイルスを含む必要量の血清を第一層ディスク 3 から第二層ディスク 4 に設けられた混合用流路 3 6 に送液する工程を説明するための図である。この工程は次の通りである。

25 (1) ディスクデバイス 1 に、ニードル 5 3 をバルブ (b) 開口ポート 8 を通して挿入する。

(2) ニードル 5 3 でバルブ (b) 1 9 を突き破り、そのニードル 5 3 を引き抜く。

(3) 分離用空隙 16 に設けられた溝 17 により、ウイルスを含む定量化された血清 54 が、血清通液孔 30 を通って、第二層ディスク 4 の混合用流路 36 に流れ落ち、そこに溜まる。以上のようにして、定量化された血清 54 が混合用流路 36 に送液される。

5 なお、ニードル 53 が刺されて一旦開いたバルブ (b) 開口ポート 8 は、やはり、ゴムの弾性による自己復元力によって塞がれる。

10 次に、第 1,2 図は、ニードル 53 を用いて、ウイルスを含む定量化された血清 54 (但し、この第 1,2 図では図示せず) と結合液 (図示せず) とを混合してその中にウイルスを溶解し、このウイルスの RNA を溶出させた混合液 55 を作り、さらに、この混合液 55 を遠心力によって高密度のシリカ製の担体 37 に通液させ、もって、溶出したウイルスの RNA を担体 37 に結合させて捕捉する工程を説明するための図である。なお、この工程は次の通りである。

15 (1) ディスクデバイス 1 に、ニードル 53 をバルブ (c) 開口ポート 9 を通して挿入する。

(2) ニードル 53 は、バルブ (c) 開口用ニードル挿入孔 20 を通ってバルブ (c) 31 を突き破る。そして、そのニードル 53 を引き抜く。

20 (3) 結合液溜め 26 に保持された結合液が混合用流路 36 内に流入する。その際、ウイルスを含む定量化された血清 54 と結合液とが担体 37 を通液できない程度の遠心力を発生させる低回転数で、ディスクデバイス 1 を回転させる。これにより、結合液溜め 26 中の結合液は、この遠心力によってバルブ (c) 31 を通り、すべてが混合用流路 36 内に流れ落ちる。

(4) この結合液と、定量化された血清 54 とを混合攪拌するため、ディスクデバイス 1 に、例えば、数秒程度の一定の時間、定期的に正逆の回転を加える。このようなディスクデバイス 1 の動作により、結合液とウイルスを含

む定量化された血清 5.4 とが混合攪拌され、ウイルスの RNA が溶出した混合液 5.5 が生成される。

(5) この混合液 5.5 に、高密度のシリカ製の担体 3.7 を通液できる程度の遠心力、例えば、3000G 程度の遠心力を加える。このシリカ製の担体 3.7 は高密度であるため、担体と RNA との接触確率が高く、RNA を含んだ混合液 5.5 が通液するだけで RNA が担体に結合され、捕捉される。

以上のようにして、RNA を含む混合液 5.5 を高密度のシリカ製担体 3.7 に通液させ、もって、RNA を担体 3.7 により捕捉する。なお、ここでも、ニードル 5.3 が刺されて一旦開いたバルブ (c) 開口ポート 9 は、そのゴムの弾性による自己復元力によって塞がれている。

次に、第 1/3 図は、遠心力とサイフォンとの原理によって、ハッチングで示した混合液 5.5 を廃液溜め 3.9 に送液する工程を説明するための図である。この工程は次の通りである。

(1) 混合液 5.5 が担体 3.7 を完全に通過し、かつ、担体 3.7 の内部には混合液 5.5 の残液が残らないように、例えば、10000G 程度の遠心力を発生させる回転数で、ディスクデバイス 1 を回転させる。その際、混合液 5.5 は、廃液溜め 3.9 につながった U 字型流路 3.8 と、回収溶離液溜め 4.2 と、そして、溶離液回収用バルブ 4.1 とによって構成される部分に溜まり、そこに満たされる。

(2) 上記の 10000G 程度の遠心力により、混合液 5.5 は、U 字型流路 3.8 を通って、次第に、廃液溜め 3.9 に送液される。その際、混合液 5.5 の移動によって廃液溜め 3.9 に存在する空気が圧縮され、この空気が、エア抜き用流路 4.5、空気が通過可能なミスト飛散防止フィルタ 4.3、そして、外部接続孔 4.4 を通って、ディスクデバイス 1 の外部に排気される。このようにして、混合液 5.5 の移動がスムーズに行われる。

(3) 上記U字型流路38と回収溶離液溜め42とには、混合液55が、空気層がない状態で満たされているので、サイフォンの原理により、混合液55は残液がなく、その全てが廃液溜め39へと送液される。以上のようにして、混合液55は廃液溜め39に送液される。なお、混合液55は、上記U字型流路38と回収溶離液溜め42との空間内に空気層が無い状態で十分満たすだけの液量であり、或いは、そのような条件を満たすようにU字型流路38と回収溶離液溜め42とが設計されている。

次に、図示しないが、結合液55を廃液溜め39に送液した後には、担体37に付着した蛋白成分や結合液成分を洗い流す工程が行われる。これは、
10 ニードル53を用いてバルブ(d)32とバルブ(e)33を突き破り、かつ、結合液を送液する方法と同様に、遠心力を洗浄液Aおよび洗浄液Bにそれぞれ加えることによって送液し、洗浄液Aおよび洗浄液Bを担体37に通液させることにより実行される。この時、洗浄液Aによって蛋白の成分を取り除き、他方、洗浄液Bによって結合液の成分を除去することとなる。さらに、
15 混合液55を廃液溜め39に送液させる工程において利用されたと同様の原理により、洗浄液Aと洗浄液Bとを、すべて、廃液溜め39に送液する。

次に、第14図は、ニードル53を用いて、溶離液56を担体37に送液させ、もって、担体37に結合したウイルスのRNAを溶離液56内に溶離させる工程を説明する。この工程は次の通りである。

20 (1) ディスクデバイス1に、ニードル53をバルブ(f)開口ポート12を通して挿入する。

(2) ニードル53は、バルブ(f)開口用ニードル挿入孔23を通つて、バルブ(f)34を突き破る。その後、そのニードル53は引き抜かれる。

25 (3) 溶離液溜め29に保持された溶離液56が、混合用流路36内に流入する。その際、ディスクデバイス1を、溶離液56が担体37を通液できない程度の遠心力を発生させる低回転数で回転させる。これにより、溶離液溜

め29内の溶離液56は、この遠心力によってバルブ(f)34を通り、全てが混合用流路36内に流れ落ちる。そして、この遠心力で、溶離液56が、図にも示すように、担体37と接触し、そして、この担体37全体を浸した後、ディスクデバイス1の回転を停止する。

5 (4) 担体加熱用抵抗体46に通電を行い、担体37を、その内部に保持された溶離液56と共に加熱し、すなわち、溶離液56の温度を60～70°Cにする。以上のようにして、溶離液56を担体37に送液し、担体37に結合したRNAを溶離液56内に溶離させる。なお、この時、ニードル53が刺されて一旦開いたバルブ(f)開口ポート12は、やはり、ゴムの弾性による自己復元力によって塞がれる。

10 次に、第15図は、ニードル管が付属した溶離液回収用チップ57を用いて、ウイルスのRNAが溶離した溶離液56を保持回収するための工程を説明する。この工程は次の通りである。

15 (1) 先の工程において担体37に保持されたRNAが溶離した溶離液56を、例えば、3000G程度の遠心力により回収溶離液溜め42に移動させ、その位置に保持させる。

(2) ディスクデバイス1に、溶離液回収用チップ57を、溶離液回収ポート13を通して挿入する。

20 (3) この溶離液回収用チップ57は、溶離液回収用チップ挿入孔24および溶離液回収用チップ挿入部35を通して、溶離液回収用バルブ41を突き破る。

(4) 溶離液回収用チップ57は、回収溶離液溜め42の位置に保持され、RNAが溶離した溶離液56が、この溶離液回収用チップ57によって吸い取られて回収される。

25 以上のようにして、ウイルスのRNAが溶離した溶離液56の回収が行われる。なお、ここでも、溶離液回収用チップ57が刺されて一旦開いた溶離

液回収ポート 1 3 は、ゴムの弾性による自己復元力によって塞がれる。また、溶離液 5 6 の液量は、上記の第 5 図に示した U 字型流路 3 8 を満たすには十分ではなく、回収溶離液溜め 4 2 の一部を満たす程度となっている。換言すれば、このような状態になるように、上記 U 字型流路 3 8 および回収溶離液 5 溜め 4 2 が設計されてもいる。そのため、上記した 1 0 0 0 0 G 程度の遠心力を R N A が溶離した溶離液 5 6 に加えても、上記第 5 図に示した廃液溜め 3 9 には、溶離液 5 6 が送液されることはない。以上に述べたような各工程を経ることにより、血液から、そこに含まれるウイルスの R N A を精製することが可能となる。

10 ここでは、さらに、前記の精製工程について、これを纏めて、添付の第 1 6 図にフローとして示す。すなわち、工程 1 は、血清分離・定量を行う工程である。この工程では、血液挿入ポート 6 から血液を注入し、ディスクを回転させて血液を遠心分離させて、必要量の定量化された血清 5 4 を溝 1 7 に保持する（対応図：第 8 図、第 9 図、及び第 1 0 図）。

15 工程 2 は、核酸結合工程である。この工程では、前記溝 1 7 の定量化された血清 5 4 が混合用流路 3 6 内に移動し、また、核酸を結合させる結合液が混合用流路 3 6 に移動して、そこで、定量化された血清 5 4 と結合液とが混合攪拌される。そして、これらの混合液 5 5 が、担体 3 7 を通過し、その過程で核酸（R N A）が担体 3 7 に結合する。そして、これらの混合液 5 5 が、20 廃液溜め 3 9 に移動する（対応図：第 1 1 図、第 1 2 図、及び第 1 3 図）。

工程 3 は、担体洗浄工程である。この工程では、洗浄液 A および洗浄液 B が担体 3 7 を通過して廃液溜め 3 9 内に移動する。

そして、工程 4 は、核酸溶離・回収工程である。この工程では、溶離液 5 6 が混合用流路 3 6 内を移動し、そして、この溶離液 5 6 は、担体 3 7 により保持される。そして、溶離液 5 6 は、担体加熱用抗体 4 6 の加熱によつ

て加熱される。その後、この溶離液5 6は、回収溶離液溜め4 2内に移動し、溶離液回収ポート1 3から回収される（対応図：第14図、及び第15図）。

次に、本発明の他の実施例（第2の実施例）になるディスクデバイス1の構造、及び、これを用いたRNAの精製方法について、以下に説明する。

5 この第2の実施例になるディスクデバイス1の構造は、上記に説明した第1の実施例の構造に比べ、その第二層ディスク4の構造においてのみ異なる。より具体的には、第17図では図示されていないが、定量化された血清5 4と結合液とによって構成される（を含む）混合液5 5、そして、洗浄液Aと洗浄液Bとから成る廃液6 0を溜めるための廃液溜め5 9の構造と10 位置とが、上記とは異なっている。さらには、上記担体3 7以後の下流流路に、分岐された分岐流路5 8を設けてある点においても異なっている。

次に、第17図および第18図を参照して、血液からウイルスのRNAを精製する工程について説明する。前記した第1の実施例（第一の方法）と同様に、ニードル5 3（但し、第17図及び第18図では図示せず）を用い、15 余剰血清を排出し、そして、ウイルスを含む定量化された血清5 4と結合液とから構成される混合液5 5（この混合液5 5には、混合後、ウイルスが溶解されてウイルスのRNAが溶出している）を、3 0 0 0 G程度の遠心力によって、担体3 7内を通液させる。なお、この時、担体3 7を通液した混合液5 5は、この遠心力によって回収溶離液溜め4 2の位置まで、一旦、運ばれる。

さらに、1 0 0 0 0 G程度の遠心力により、混合液5 5は分岐流路5 8を上り、そして、第二層ディスク4の表側に形成された廃液溜め5 9に達する。なお、この時、ディスクデバイス1の回転を停止させても、分岐流路5 8が図示のように形成されているため、液が回収溶離液溜め4 2に戻ることはない（第17図参照）。さらに、洗浄液Aおよび洗浄液Bについても、やはり同様の原理で、順次、担体3 7を通液させ、そして、廃液溜め5 9に送液す25

る。次に、前記第1の実施例の方法（第1の方法）と同様に、ニードル53によってバルブ（f）34を開け、溶離液56を担体37に保持させ、さらに、その後、担体加熱用抵抗体46によって溶離液56と担体37を加熱し、溶離液56の温度を60～70℃にし、もって、担体37に結合したウイルスのRNAを溶離液56に溶離させる。

その後、遠心力により、溶離液56を担体37内に通液させ、回収溶離液溜め42に移動させる。その際、溶離液56には、当該溶離液56が分岐流路58を上って廃液溜め59に移動せず、しかしながら、溶離液56が担体37を通液できる程度の遠心力（例えば、3000G程度の遠心力）を加える。最後に、上記第1の実施例（第一の方法）と同様に、溶離液回収用チップ57を、溶離液回収ポート13及び溶離液回収用チップ挿入孔24を通して挿入し、RNAが溶離している溶離液56を回収する。以上のような構成および工程によって、対象となるRNAの精製を可能とする。

次に、本発明の更に他の実施例（第3の実施例）になるディスクデバイス1の構造、及びそれを利用したRNAの精製方法について説明する。

第19図は、ディスクデバイス1を構成する第二層ディスク4の表側の構造を示している。その他の部分の構造は、上記第1の実施例における構造と同様であり、ここでは、その説明を省略する。

なお、この更に他の実施例（第3の実施例）になるディスクデバイス1では、担体37から廃液溜め39に通じる流路内に、さらに、上記担体の密度よりも更に高密度のフィルタ61を設け、そして、上記回収溶離液溜め42の形状を、溶離液56（第19図では図示せず）を保持しやすいように、太鼓型にしてある点において、上記第1の実施例の構造と異なっている。このような形状の第二層ディスク4では、ウイルスを含む定量化された血清54と結合液とによって構成される混合液55（混合液には、混合後、ウイルスが溶解してウイルスのRNAが溶出している）を担体37内に通液させた後、

さらに、例えば、20000G程度の遠心力で、上記フィルタ61をも通液させ、もって、混合液5'5を廃液溜め3'9内に移動させる。その後、洗浄液Aおよび洗浄液Bについても、上記と同様の原理により、順次、担体3'7を通液させ、廃液溜め3'9へ移動させる。最後に、担体3'7を通液することは出来るが、しかし、フィルタ61を通液することは出来ない程度の遠心力（例えば、3000G程度の遠心力）を加えことにより、ウイルスのRNAが溶離した溶離液5'6を回収溶離液溜め4'2内に溜める。そして、上記第1の方法と同様にして、溶離液5'6を回収する。

すなわち、以上のような構成および工程によって、この第3の実施例によるディスクデバイス1では、RNAを精製することができる。

最後に、上記にその構成や動作を詳細に説明した本発明のディスクデバイス1により構成された核酸精製装置を用い、試料である血液から、対象となる核酸、すなわち、ウイルスのRNAを精製する方法について、以下に説明する。

まず、第20図は、ディスクデバイス1を用いた核酸精製装置の概略コンセプトを示す模式図である。この装置は、ディスクデバイス1に接続されたモータ62、ディスクデバイス1に通電するための通電用端子付属アーム63、ディスクデバイス1内部のバルブを開けるための穿孔機64、RNAが溶離した溶離液を回収するためのチップ付属ロボットアーム65、溶離液を吸い出すためのポンプ66、配管67、回収溶離液を注入するための溶離液回収ボトル68、血液をディスクデバイス1に注入するための血液用チップ付属ロボットアーム69、検査用血液を保持するための血液ボトル70、そして、筐体71から構成されている。なお、ここで示した装置は、必ずしも、上記の構成で、又は、その全ての構成要件からなる必要は無く、これに代えて、当業者であれば、各種のバリエーションが様々考えられるであろう。

なお、この第20図にその構成の一例を示した装置を用い、RNAを精製する方法における工程は、次の通りである。

(1) 対象となるウイルスが含まれる血液を保持する血液ボトル70から、血液用チップ付属ロボットアーム6-9によって、サンプルの血液をポンプ6-6により定量だけ採り、血液挿入ポート6を通して、上記ディスクデバイス1内に注入する。

(2) 上記で説明したディスクデバイス1の工程（即ち、血球分離、血清と結合液との混合、混合液の担体通液、洗浄液の担体通液、担体と結合したRNAの溶離、そして、混合液および洗浄液とは別に溶離液を保持）を、順次10 経ることにより、ウイルスのRNAを溶離した溶離液5-6を得る。

なお、ここで、ディスクデバイス1に設けられたバルブ(a)18、バルブ(b)19、バルブ(c)31、バルブ(d)32、バルブ(e)33、そして、バルブ(f)34は、上記の穿孔機6-4によって開けられる。また、このディスクデバイス1は、モータ6-2によって回転させる。担体加熱用抵抗4-6に通電させる場合には、ディスクデバイス1の回転を停止させ、通電用端子付属アーム6-3をディスクデバイス1のプラス電極4-8及びマイナス電極4-9に接触させる。

(3) チップ付属ロボットアーム6-5により、ディスクデバイス1内部の溶離液回収用バルブ4-1を開け、RNAが溶離した溶離液5-6を、ポンプ6-6によって回収する。さらに、その溶離液5-6を、溶離液回収ボトル6-8に移し、もって、所望の溶離液5-6を得る。

以上のようにして、対象となるRNAを含む血液から、当該血液中に存在する他の共存物質から分離して、そのRNAを含む溶離液だけを精製することが可能となる。

25 以上に説明した実施例では、核酸含有する試料として、血液（全血）を一例として説明したが、しかしながら、かかる核酸を含有する試料としては、

上記の血液（全血）の他に、例えば、血清や尿等の生体試料や、培養細胞、培養細菌等の生物学的な試料が含まれ、本発明は、これらにも適用することもできる。また、対象となる核酸としては、HCVウイルスやHIVウイルス等のRNAを一例として説明したが、本発明は、やはり、これのみに限定することなく、その他にも、例えば、デオキシリボ核酸（DNA）にも適用することもできる。さらに、上記核酸を捕捉するためのシリカ製の担体は、例えば、シリカ粒子、石英ウール、石英濾紙、又は、それらの破碎物を適用して構成することが出来る。また、カオトロピックイオンを含む結合液としては、グアニジンチオシアネート溶液が好ましいが、その他にも、例えば、

5 10 塩酸グアニジン溶液、ヨウ化ナトリウム溶液、ヨウ化カリウム溶液などでもよい。さらに、洗浄液Aとしては、例えば、グアニジンチオシアネートをメイン成分とする溶液が好ましく、又、洗浄液Bとしては、エタノールを50%含む水溶液が好ましい。そして、溶離液としては、TE緩衝液（pH 8.0）が好ましい。

15 また、本発明によれば、試料に含まれる核酸の濃度が、例えば、10² copy/ml程度の低濃度の場合においても、試料中に存在する核酸と固相との接触頻度を高めることができ、これにより、核酸を高い回収率で精製することができる。また、同一デバイス内で上記の各工程を処理するため、コンタミネーションの問題をも解消できる。

20 また、本発明の実施例によれば、核酸の精製操作を自動化することが容易になる。さらに、本発明では、遠心力を核酸の精製工程に適用することができることから、担体中に設けられた固相の密度を高めることができ、試料に含まれる核酸の濃度が低濃度の場合においても、核酸を高い回収率で精製することが可能となる。

25 次に、第21図～第38図を参照し、本発明による核酸精製装置の他の実施例について、以下に説明する。

第2.1図は、本発明による核酸精製装置を用いた遺伝子分析装置の全体構成を示す。この遺伝子分析装置9.0.1は、モータ9.1.1により回転可能に支持された保持ディスク9.1.2と、この保持ディスク9.1.2上の突起1.2.1により位置決めされた複数の扇形の分析ディスク9.0.2と、液体の流動を制御するための穿孔機9.1.3と、そして、加温及び検出のための2台の光学装置、即ち、上部光学装置9.1.4及び下部光学装置9.1.5とを備えている。なお、保持ディスク9.1.2は、下部光学装置9.1.5用の保持ディスク光学窓1.2.2を備えている。

第2.2図は、核酸の精製構造体である、即ち、分析ディスク9.0.2の構成を示す図である。この分析ディスク9.0.2は、基本的には、上カバー9.2.0と流路部9.3.0とを接合して構成している。上カバー9.2.0は、試料注入口2.1.0、複数の試薬注入口2.2.0、2.3.0、2.4.0、2.5.0、2.6.0、2.7.0、及び、複数の通気孔2.1.2、2.2.2、2.7.2、2.7.3、及び、複数の蓋付通気孔2.2.1、2.3.1、2.4.1、2.5.1、2.6.1、2.7.1を備えている。流路部9.3.0は、位置決め孔7.1.0、及び、後述の容器および流路等を備えている。また、分析ディスク9.0.2は、保持ディスク9.1.2の突起1.2.1に対して位置決め孔7.1.0が嵌め合うことによって位置決めされる。

上記流路部9.3.0の構成を、添付の第2.3図に示す。この第2.3図に示す流路部の実施例は、全血から血清を分離した後、血清中のウイルスに含まれる核酸を抽出し、そして、当該核酸を抽出した抽出液を定量後、検出試薬を添加して分析するための流路を構成している。

以下に、全血を試料として用いた場合におけるウイルス核酸の抽出及び分析動作について説明する。なお、抽出及び分析動作の流れを第2.4図及び第2.5図により、そして、流路部9.3.0内の流動状態を第2.6図から第3.8図により示す。

この装置の操作者は、まず、分析ディスク 9-0-2 の上カバー 9-2-0 から、各試薬注入口 2-2-0、2-3-0、2-4-0、2-5-0、2-6-0、そして、2-7-0 を通して、試薬を各試薬容器 3-2-0、3-3-0、3-4-0、3-5-0、3-6-0、及び、3-7-0 に分注し、その後、蓋をする。なお、この場合、分析数に応じて必要な数の分析ディスク 9-1-2 に試薬を注入した後、この保持ディスク 9-1-2 に分析ディスクを装着することは、当業者であれば明らかであろう。

次に、真空採血管等で採血した全血を、試料注入口 2-1-0 より試料容器 3-1-0 内に注入する（第 2-6 図参照）。

全血 5-0-1 を注入した後、モータ 9-1-1 により保持ディスク 9-1-2 を回転する。試料容器 3-1-0 に注入された全血は、保持ディスク 9-1-2 の回転に伴って発生する遠心力の作用によってその外周側に流動し、血球貯蔵容器 3-1-1 及び血清定量容器 3-1-2 内を満たし、他方、余分となった全血は、オーバーフロー細管流路 3-1-3 からオーバーフロー太管流路 3-1-4 を通って全血廃棄容器 3-1-5 へ流れる（第 2-7 図参照）。この全血廃棄容器 3-1-5 には、全血廃棄用通気流路 3-1-8 が設げられており、さらに、上カバー 9-2-0 の全血廃棄用通気流路 3-1-8 の最内周部に対応する位置には、全血廃棄用通気孔 2-1-2 が設けられており、そのため、その内外で空気が自由に出入りすることが可能である。オーバーフロー細管流路 3-1-3 からオーバーフロー太管流路 3-1-4 にかけての接続部は急拡大しており、かつ、オーバーフロー細管流路 3-1-3 の最内周側（半径位置 6-0-1）にあることから、全血は、オーバーフロー細管流路 3-1-3 を満たした状態では、前記接続部において切れる。従って、図の半径位置 6-0-1 より内周側においては、液体は存在できず、そのため、血清定量容器 3-1-2 の液面も、この半径位置 6-0-1 となる。また、血清定量容器 3-1-2 から分岐している血清毛細管 3-1-6 にも全血が流れ込み、ここででも、全血の最内周部は半径位置 6-0-1 となる。

さらに保持ディスクの回転を続けると、全血 501 は血球と血清とに分離（遠心分離）され、これにより、血球 502 は外周側の血球貯蔵容器 311 へ移動し、他方、血清定量容器 312 内には血清 503 だけが充填される（第 2.8 図参照）。

5 なお、上記した一連の血清分離動作時には、上カバー 920 に設けられた各試薬容器の通気孔 221、231、241、251、261、271 には、その蓋が閉じられた状態となっており、そこから空気が内部に入らないようになっている。

一方、各試薬は、遠心力により試薬容器の外周側から流出しようとするが、

10 しかしながら、その内部には空気が入らずに試薬容器内の圧力が低下して、遠心力と釣り合っており、そのため、試薬は外部に流出することはできない。しかしながら、回転数が増加してその遠心力が大きくなるに従い、この試薬容器内の圧力は徐々に低下し、そして、試薬の飽和蒸気圧以下になると、その内部に気泡が発生する。そこで、添付の第 2.6 図に示すように、各試薬容器の外周側から流出する試薬を、一旦、その内周側に戻すような流路構造（所謂、戻り流路 322、332、342、352、362、372）を形成することにより、試薬容器内の圧力低下を抑制し、かつ、その内部での気泡の発生を防ぐことができる。このように、血清分離の動作時には、各試薬は試薬容器内に保持されたまま流動しない。

15 20 所定の時間回転させて血清分離動作が終了すると、分析ディスク 902 は停止し、血清定量容器 312 内の血清 503 の一部が、血清毛細管 316 の内部に表面張力によって移動し（毛細管流動）、混合部 410 と血清毛細管 316 との接続部である混合部入り口 411 まで入り込み、もって、血清毛細管 316 内を満たす。

25 25 以下、穿孔機 913 は、各試薬容器の上部に設けた通気孔の蓋に、一つづつ穴を開け、続いて、モータ 11 を回転し、もって、各試薬を遠心力によっ

て流動させる。分析ディスクの断面に示すように、上カバー9.2.0には、各試薬容器の上部に対応して、試薬注入口(240、250、260)、及び、通気孔(241、251、261)が設けられており、さらに、これら通気孔は蓋で閉じられている。そこで、穿孔機913は、この蓋に穴を開けることにより、当該試薬容器内に空気が入り得る状態にする。

以下には、血清の分離作業が終了後における動作を示す。

溶解液容器320には、血清中のウイルスの膜蛋白を溶解するための溶解液521が分注されている。すなわち、上記穿孔機913が溶解液通気孔22.1の蓋に穴を開けた後にモータ911を回転させると、遠心力の作用により、溶解液521は溶解液容器320から溶解液戻り流路32.2を経て、混合部41.0に流れ込む。また、血清定量容器312内における血清の最内周側(血清分離終了時には、半径位置601にある)が混合部入り口41.1(半径位置602)より内周側にあるため、遠心力によるヘッド差により、血清定量容器312及び血清毛細管316内の血清は、混合部入り口41.1から混合部41.0へ流れ込む(第29図)。なお、この混合部41.0は、例えば、樹脂、ガラス、又は紙等の多孔性のフィルタや纖維、或いはエッティングや機械加工等で製作したシリコンや金属等の突起物など、血清と溶解液を混合することができる部材により構成されている。

そこで、血清と溶解液は、上記混合部41.0で混合され、反応容器42.0内へ流れ込む(第30図参照)。この反応容器42.0には、反応容器用通気流路42.3が設けており、さらには、上カバー9.2.0の反応容器用通気流路42.3の最内周部に対応する位置には、反応容器用通気孔22.2が設けられていおり、そのため、その内外には空気が自由に出入りが可能である。そして、血清定量容器312から血清毛細管316への分岐部3.1.7(半径位置603)は、上記混合部入り口41.1(半径位置602)より内周側に存在するため、所謂サイフォン効果により、血清毛細管316内の血清は、全て

混合部 410 に流れ出る。一方、血清定量容器 312 内の血清は、遠心力によって血清毛細管 316 内に流れ込むことから、血清定量容器 312 内での血清の液面が分岐部 317 (半径位置 603) に到達するまでは、血清は混合部 410 に流出し続け、そして、この血清の液面が分岐部 317 に到達した時点で、血清毛細管 316 に空気が混入してその内部を空にし、もって血清はその流動を終了する。すなわち、血清分離の終了時点での半径位置 601 から半径位置 603 までの、上記血清定量容器 312、オーバーフロー細管流路 3.1.3、及び、血清毛細管流路 316 内における血清が、上記混合部 410 に流出し、溶解液と混合する。

10 反応容器 420 では、混合した血清と溶解液が反応する。血清と溶解液の混合液が反応容器 420 に流動した後の反応容器 420 内での液面は、反応液流路 421 の最内周部 (半径位置 604) よりも外周側に存在するため、反応液流路の最内周部を越えることができず、その回転中は、混合液が反応容器 420 内に保持される。

15 溶解液は、血清中のウイルスや細菌等から、その膜を溶解して核酸を溶出させる働きをし、さらに、核酸結合部材 301 への核酸の吸着を促進させる。このような試薬としては、特に、DNA の溶出及び吸着には、塩酸グアニジンを、他方、RNA に対しては、グアニジンチオシアネートを用いればよく、また、核酸の結合部材としては、石英やガラス等の多孔質材や、繊維フィル

20 タ等を用いればよい。

次に、血清と溶解液とが反応容器 420 内に保持された後、モータ 911 を停止し、穿孔機 913 によって、追加液容器 330 に空気を供給するため、追加液通気孔 231 の蓋に穴を開け、再び、モータ 911 を回転させる。すると、遠心力の作用により、追加液 531 は、追加液容器 330 から追加液 25 戻り流路 332 を経て、反応容器 420 内に流れ込み、これにより、反応容器 420 内の混合液の液面を内周側に移動させる (第 31 図)。その後、こ

の液面が反応液流路 421 の最内周部（半径位置 604）に達すると、混合液は反応液流路の最内周部を越えて流れ出し、合流流路 422 を経て、核酸結合部材 301 へ流れ込む。この追加液としては、例えば、上述の溶解液を使用すればよい。

5 なお、試料によっては、混合液の壁面に対する濡れ性がよく、停止状態でも反応液流路 421 内を毛細管現象で混合液が流動する場合もあり、この時には、この追加液 531 は必要とされない。

10 このようにして、溶解液と血清との混合液が核酸結合部材 301 を通過すると、核酸は核酸結合部材 301 に吸着され、液体（混合液）は検出容器 450 へと流れ込む。この混合液は、それが流れ込む検出容器 450 の容積よりもその液量が十分に多く、そのため、廃液流路 452 の最内周部（半径位置 607）を越えて廃液容器 460 へ流出する（第 32 図）。

15 一方、反応容器 420 内の混合液は、反応液流路 421 を経て、合流流路 422 から徐々に流出する。しかしながら、反応容器 420 から反応液流路 421 への分岐部（半径位置 605）は上記合流流路 422（半径位置 606）よりも内周側に位置するため、反応容器 420 内の混合液は、全て、サイフォン効果によって、合流流路 422 へと流れる（第 33 図）。核酸結合部材 301 を通過して検出容器 450 へ流入した液も、上記と同様であり、即ち、検出容器 450 から廃液流路 452 への分岐部（半径位置 608）は 20 廃液流路 452 の廃液容器 460 への出口（半径位置 609）よりも内周側に位置するため、やはりサイフォン効果により、検出容器 450 内の液体は、全て、廃液流路 452 を経て、廃液容器 460 へと流出する。

25 次に、モータ 911 を停止し、穿孔機 913 により、第一洗浄液容器 340 に空気を供給するための第一洗浄液通気孔 241 の蓋に穴を開ける。その後、再びモータ 911 を回転させると、遠心力の作用により、第一洗浄液 541 は、第一洗浄液容器 340 から第一洗浄液戻り流路 342 を経て、核酸

結合部材 301 へ流れ込み、これにより、核酸結合部材 301 に付着した蛋白等の不要成分を洗浄する（第 34 図）。なお、第一洗浄液としては、例えば、上述した溶解液、或いは、当該溶解液の塩濃度を低減した液を使用すればよい。また、上記の第一洗浄液 54.1 の液量は、検出容器 450 の容積よりも十分に大きく、そのため、廃液流路 45.2 の最内周部（半径位置 6.0 7）を越えて廃液容器 460 へ流出する（第 34 図）。

更に、検出容器 450 内の液は、やはりサイフォン効果により、全て、廃液流路 45.2 を経て廃液容器 460 へと流出する（第 35 図）。

以下、同様の洗浄動作を、複数回繰り返す。例えば、第一洗浄液に引き続 10 き、モータを停止した状態で、穿孔機 913 により、第二洗浄液容器 350 に空気を供給するための第二洗浄液通気孔 241 の蓋に、穴を開け、その後、再び、モータ 911 を回転させる。これにより、核酸結合部材 301 に付着 15 した塩等の不要成分を洗浄する（第 36 図）。なお、この洗浄液としては、例えば、エタノール、或いは、エタノール水溶液を用いればよい。また、この洗浄は、必要に応じて、同様の方法で、さらに繰り返してもよい。

以上に述べたように、核酸結合部材 301 を洗浄し、核酸のみが核酸結合部材 301 内に吸着している状態にした後、続いて、核酸の溶離工程に移行する。すなわち、この核酸の溶離工程では、モータが停止した状態で、穿孔機 9 20 13 により、溶離液容器 360 に空気を供給するための溶離液通気孔 261 の蓋に穴を開け、さらに、溶離液廃棄容器 470 を外部と連通させるための溶離液廃棄用通気孔 274 の蓋に穴を開ける。そして、再び、モータ 911 を回転させ、核酸結合部材 301 に溶離液を流す（第 36 図）。この溶離液は、核酸を核酸結合部材 301 から溶離するための液で、例えば、水、或い 25 は、pH を 7 から 9 に調整した水溶液を用いればよい。特に、核酸がその内に溶離し易くするため、40 度以上に加温することが望ましい。この加温

のためには、上記第21図に示した上部光学装置914を用いて、溶離液容器360の上から光を照射すればよい。

溶離液561は、核酸結合部材301を通過した後、検出容器450に流れ込む（第37図）。この溶離液561の液量は、検出容器450の容積より小さく、そのため、検出容器450内の液体（液面半径位置610）は廃液流路452の最内周部（半径位置607）を越えることができず、検出容器450内に保持されることとなる。

次に、モータを停止した状態で、穿孔機913により、検出液貯蔵容器370に空気を供給するための検出液通気孔271の蓋に、穴を開け、その後、再び、モータ911を回転させ、これにより、検出液571を検出容器450に流す（第38図）。この検出液としては、核酸を增幅して検出するための試薬である、例えば、デオキシヌクレオシド三リン酸又はDNA合成酵素、及び、蛍光試薬等を含んでいる。なお、增幅方法に応じて、上記第21図に示した上部光学装置914を用い、検出容器450の上から光を照射して加温してもよい。

続いて、やはり上記第21図に示した下部光学装置915を検出容器450の下方に移動させ、もって、例えば、その蛍光発光量を検出する。

ところで、上記穿孔時、加温時、及び、検出時には、保持ディスク912を所定の位置に停止させる必要がある。そこで、本実施例では、第39図に示すように、保持ディスク912には位置決め用突起917が設けられており、これを位置検出器916で検出し、もって、保持ディスクの回転位置を検出している。また、コントローラ918が、モータ911の回転、穿孔機913の回転及び上下動、そして、上部光学装置914及び下部光学装置915の回転、照射、そして、検出を制御する。

第40図には、例えば、穿孔機913の動作タイミングの一例を示す。すなわち、保持ディスク912は、全血又は各試薬の流動の終了後、その回転

数を低下させ、位置決め用の低速回転を維持する。位置検出器 916 が位置決め用突起 917 を検出すると、保持ディスク 912 は停止し、穿孔機 913 が下降して各試薬貯蔵容器の通気孔の蓋に穴を開けた後、再び、上昇する。この穿孔後、保持ディスク 912 は、その後、穿孔終了後の試薬貯蔵容器から試薬が流出しない程度の低速で回転し、次の分析ディスクの位置、すなわち分析ディスクが 6 枚装着されている場合には 60 度だけ回転し、停止し、上記と同様の穿孔動作を繰り返す。なお、分析ディスクが装着された位置は、例えば、下部光学装置 915 により、流路部 930 へ保持ディスクの光学窓 122 から光を照射し、その反射光を調べればよい。そして、全ての分析ディスクの穿孔が終了した後、保持ディスクを高速で回転させて試薬を流動させる。

以上のように、本発明によれば、従来のように試料や各試薬の流動を制御するためのバルブを流路の途中に設ける必要がなく、また、流路途中でのバルブ部でも液残りは発生せず、前工程での試薬による汚染を防止でき、液体試料中の核酸等の特定成分を高純度に抽出でき、核酸等の特定成分を高精度に分析することを可能とする。

なお、本発明は、前述したように、特に、核酸を精製、抽出した核酸の遺伝子を分析する分析装置やそのための分析方法に適用することが好ましいが、しかしながら、その他の化学物質を精製する装置や方法に適用することも可能である。すなわち、より具体的には、本発明によれば、例えば、蛋白質やアミノ酸等の化学物質を分析するための分析装置やその方法を構成することも可能である。

産業上の利用可能性

本発明は、核酸を含有する試料から核酸を精製するための装置に適用できる。特に、遠心力を利用し、核酸が共存している物質から核酸を分離するの

に適した、所謂、核酸の自動精製装置やその精製方法、更には、化学物質の精製装置などにも適用することができる。また、かかる装置を備えた遺伝子分析装置にも適用することができる。

請求の範囲

1. 核酸を含有する試料から核酸を精製する装置であつて：

遠心力で核酸を含む溶液を前記試料から分離させる手段と；

遠心力で試薬を送液させる手段と；

5 遠心力で送液させた前記試薬と前記核酸を含む溶液との混合液とする手段と；

前記核酸を捕捉する担体と；

前記混合液を前記担体に遠心力により通液させる手段と；

遠心力で前記試薬とは別の試薬を前記担体に通液させる手段と；

10 前記担体の加熱手段と；そして、

前記担体から溶離した前記核酸を含む試薬を異なる遠心力により他の試薬と区別して保持する保持手段とを備えたことを特徴とする核酸精製装置。

2. 核酸を含有する試料から核酸を精製する装置であつて：

遠心力で核酸を含む溶液を前記試料から分離させる手段と；

15 試薬を保持する試薬保持手段と；

前記試薬保持手段から遠心力で前記試薬を送液させる手段と；

遠心力で送液させた前記試薬と前記核酸を含む溶液との混合液とする手段と；

前記核酸を捕捉する担体と；

20 前記混合液を前記担体に遠心力により通液させる手段と；

遠心力で前記試薬とは別の試薬を前記担体に通液させる手段と；

前記担体の加熱手段と；そして、

前記担体から溶離した前記核酸を含む試薬を異なる遠心力により他の試薬と区別して保持する保持手段とを備えたことを特徴とする核酸精製装置。

3. 核酸を含有する試料から核酸を精製する装置であって：

遠心力で核酸を含む溶液を前記試料から分離させる手段と；

遠心力で試薬を送液させる手段と；

遠心力で送液させた前記試薬と前記核酸を含む溶液との混合液とする手段

5 と；

前記核酸を捕捉する担体と；

前記混合液を前記担体に遠心力により通液させる手段と；

遠心力で前記試薬とは別の試薬を前記担体に通液させる手段と；

前記担体の加熱手段と；そして、

10 前記担体から溶離した前記核酸を含む試薬を異なる遠心力により他の試薬

と区別して保持する保持手段とを備えたデバイスと、そして、

前記デバイスの外部から前記試薬を供給する供給手段とを備えたことを特徴とする核酸精製装置。

4. 核酸を含有する試料から核酸を精製する装置であって：

15 一方をゴムシールされた孔を備えた円形状の表蓋と；

前記表蓋との間で形成される空隙と；

前記空隙に在り、前記試料から核酸を含む溶液を分離する分離ゲルと前記溶液の定量化をおこなう溝とを備えた円形状の第一のディスクと；

試薬を備えた試薬溜めと、流路と、核酸を結合させる担体と、前記試薬の

20 うち核酸を溶離させた後の溶離液を溜める溶離液溜めと、前記溶離液溜めに統いて設けられ、外部に開放された流路を備えた前記溶離液以外の試薬を溜める廃液溜めとを備えた円形状の第二のディスクと；そして、

加熱体を備えた円形状の裏蓋とを有し、

前記裏蓋と、前記第二のディスクと、前記第一のディスクと、前記表蓋と

25 を、順次、積層して成るデバイスを構成すると共に、前記デバイス内の所定

位置での穿孔により前記溶液および前記試薬が孔を通って前記デバイスの厚み方向に通液する穿孔部を有することを特徴とする核酸精製装置。

5. 前記第二のディスクの前記溶離液溜めと前記廃液溜めとの間にU字型流路を設けたことを特徴とする請求項4に記載の核酸精製装置。
5. 前記第二のディスクの前記溶離液溜めと前記廃液溜めとの間に、前記デバイスの厚み方向に分岐する分岐流路を設けたことを特徴とする請求項4に記載の核酸精製装置。
7. 前記第二のディスクの前記溶離液溜めと前記廃液溜めとの間に、前記担体よりも通液の低いフィルタを設けたことを特徴とする請求項4記載の核酸精製装置。
10. 8. 核酸を含有する試料から核酸を精製する方法であって：
円形状の複数のディスクを積層して形成されるデバイスの内部に設けられた第一の空隙内で分離ゲルを用いて、核酸を含む溶液を前記試料から遠心力で分離する工程と；
15 前記デバイス内に第一の孔を設けることで前記溶液を定量化する工程と；
前記デバイス内に第二の孔を設けることで前記定量化された溶液を前記デバイス内部の第二の空隙である流路に送液する工程と；
前記デバイス内に第三の孔を設け、結合液である第一の試薬を前記流路に遠心力で送液する工程と；
20 前記流路内で前記定量化された溶液と前記結合液との混合液を生成する工程と；
前記結合液を前記核酸を捕捉する担体に遠心力で通液し、前記デバイス内部の第三の空隙である廃液溜めに送液する工程と；

前記デバイス内に第四の孔を設け洗浄液である第二の試薬を前記流路に遠心力で送液する工程と；

前記洗浄液を前記担体に遠心力で通液し、前記廃液溜めに送液する工程と；

5 前記デバイス内に第五の孔を設け溶離液である第三の試薬を前記流路に遠心力で送液する工程と；

前記溶離液を前記担体に保持させて、前記担体を加熱する工程と；

前記担体から溶離した前記核酸を含む前記溶離液を担体に続く流路に形成された溶離液溜めに遠心力で送液し、他の試薬と区別して保持する工程と；

10 そして、

前記デバイスの外部より前記溶離液を前記溶離液溜めから回収する工程とを含む核酸精製方法。

9. 回転可能に形成される核酸精製構造体であつて：

核酸を含む流体が供給される供給部と；

15 前記供給された流体中の核酸が捕捉される核酸捕捉部と；

前記核酸捕捉部に洗浄液が供給される洗浄液供給部と；

前記核酸捕捉部を流過した前記洗浄液が廃棄される廃棄部と；

前記核酸捕捉部に溶離液が供給される溶離液供給部と；そして、

20 前記核酸捕捉部を流過し、前記核酸捕捉部で補足された核酸を前記核酸捕捉部から離して内部に含む溶離液を保持する溶離液保持部とを備え、

前記溶離液保持部は、前記核酸捕捉部と前記廃棄部とを連絡する流路に形成されることを特徴とする核酸精製構造体。

10. 回転可能に形成される核酸精製構造体であつて：

核酸を含む流体が供給される供給部と；

25 前記供給された流体中の核酸が捕捉される核酸捕捉部と；

前記核酸捕捉部に洗浄液が供給される洗浄液供給部と；
前記核酸捕捉部を流過した前記洗浄液が廃棄される廃棄部と；
前記核酸捕捉部に溶離液が供給される溶離液供給部と；そして、
前記核酸捕捉部を流過し、前記核酸捕捉部で補足された核酸を前記核酸捕
5 捉部から離して内部に含む溶離液を保持する溶離液保持部とを備え、
前記溶離液保持部は、前記核酸捕捉部の下流に形成され、前記廃棄部は、前
記溶離液保持部の下流に形成されることを特徴とする核酸精製構造体。

11. 回転可能に形成される核酸精製構造体であつて：
核酸を含む流体が供給される供給部と；
10 前記供給された流体中の核酸が捕捉される核酸捕捉部と；
前記核酸捕捉部に洗浄液が供給される洗浄液供給部と；
前記核酸捕捉部を流過した前記洗浄液が廃棄される廃棄部と；
前記核酸捕捉部に溶離液が供給される溶離液供給部と；そして、
前記核酸捕捉部を流過し、前記核酸捕捉部で補足された核酸を前記核酸捕
15 捉部から離して内部に含む溶離液を保持する溶離液保持部とを備え、
前記溶離液保持部は、前記核酸捕捉部の外周側に形成され、前記廃棄部は、
前記溶離液保持部の外周側に形成されることを特徴とする核酸精製構造体。

12. 回転可能に形成される核酸精製構造体であつて：
核酸を含む流体が供給される供給部と；
20 前記供給された流体中の核酸が捕捉される核酸捕捉部と；
前記核酸捕捉部に洗浄液が供給される洗浄液供給部と；
前記核酸捕捉部を流過した前記洗浄液が廃棄される廃棄部と；
前記核酸捕捉部に溶離液が供給される溶離液供給部と；
前記核酸捕捉部を流過し、前記核酸捕捉部で補足された核酸を前記核酸捕
25 捉部から離して内部に含む溶離液を保持する溶離液保持部と；そして、

前記溶離液保持部と前記廃棄部を連絡する廃液流路とを備え、
前記廃液流路は、前記溶離液保持部の最内周側の領域より外周側に位置する
領域に連絡する保持部連絡部と、前記連絡部の下流に位置し、前記連絡部よ
り内周側に位置する内周側領域部と、前記内周側領域部の下流に位置し、前
記内周側領域部より外周側に位置する前記廃棄部に連絡する廃棄部連絡部と
を有することを特徴とする精製構造体。

13. 回転可能に形成される核酸精製構造体であって：

- 核酸を含む流体が供給される供給部と；
- 前記供給された流体中の核酸が捕捉される核酸捕捉部と；
- 前記核酸捕捉部に洗浄液が供給される洗浄液供給部と；
- 前記核酸捕捉部を通過した前記洗浄液が廃棄される廃棄部と；
- 前記核酸捕捉部に溶離液が供給される溶離液供給部と；
- 前記核酸捕捉部を通過し、前記核酸捕捉部で補足された核酸を前記核酸捕
捉部から離して内部に含む溶離液を保持する溶離液保持部と；そして、
- 前記溶離液保持部と前記廃棄部を連絡する廃液流路とを備え、
前記溶離液保持部と前記廃液流路との接続部は、前記廃液流路の最内周部よ
り外周側であって、前記廃液流路の最外周部より内周側に形成されることを
特徴とする核酸精製構造体。

14. 回転可能に形成される核酸精製構造体であって：

- 核酸を含む流体が供給される供給部と；
- 前記供給された流体中の核酸が捕捉される核酸捕捉部と；
- 前記核酸捕捉部に第一の試薬が供給される第一の試薬供給部と；
- 前記核酸捕捉部を通過した前記第一の試薬が廃棄される廃棄部と；

前記核酸捕捉部に前記第一の試薬よりも前記核酸捕捉部で捕捉された前記核酸を前記核酸捕捉部から離す作用が大きい第二の試薬が供給される第二の試薬供給部と；

前記核酸捕捉部を流過し、前記核酸捕捉部で捕捉された核酸を前記核酸捕捉部から離して内部に含む前記第二の試薬を保持する第二の試薬保持部と；そして、

前記第二の試薬保持部と前記廃棄部を連絡する廃液流路とを備え、前記廃液流路の最内周部と前記第二の試薬保持部との接続部までの領域と、前記第二の試薬保持部の前記最内周部より外周側に位置する領域との合計の容積は、前記供給される第一の試薬より小さく、前記供給される第二の試薬より大きくなるよう形成されることを特徴とする核酸精製構造体。

1.5：回転可能に形成される核酸精製構造体であって：

核酸を含む流体が供給される供給部と；前記供給された流体中の核酸が捕捉される核酸捕捉部と；前記核酸捕捉部に洗浄液が供給される洗浄液供給部と；前記核酸捕捉部を流過した前記洗浄液が廃棄される廃棄部と；前記核酸捕捉部に溶離液が供給される溶離液供給部と；前記核酸捕捉部を流過し、前記核酸捕捉部で補足された核酸を前記核酸捕捉部から離して内部に含む溶離液を保持する溶離液保持部と；そして、前記溶離液保持部と前記廃棄部を連絡する廃液流路とを備え、前記廃液流路の最内周部と前記溶離液保持部との接続部までの領域と、前記溶離液保持部の前記最内周部より外周側に位置する領域との合計の容積は、前記供給される洗浄液より小さく、前記供給される溶離液より大きくなるよう形成されることを特徴とする核酸精製構造体。

16. 請求項 9 に記載の核酸精製構造体を収容する収容部と、前記核酸精製構造体を回転させる回転駆動機構とを備えることを特徴とする核酸精製装置。

17. 請求項 16 に記載の核酸精製装置であって、前記核酸精製構造体の前記溶離液保持部に導いた前記核酸を用いて、前記核酸の遺伝子を分析する分析機構を備えることを特徴とする遺伝子分析装置。

18. 請求項 16 に記載の核酸精製装置であって、前記核酸精製構造体の前記溶離液保持部に導いた前記核酸を加温する加温装置を備えることを特徴とする核酸精製装置。

19. 請求項 16 に記載の核酸精製装置であって、前記廃液流路の最内周部と前記溶離液保持部との接続部までの領域と、前記溶離液保持部の前記最内周部より外周側に位置する領域との合計の容積より多い量の前記洗浄液が前記核酸捕捉部から前記溶離液保持部を経て前記廃液部に保持されるよう制御し、前記廃液流路の最内周部と前記溶離液保持部との接続部までの領域と、前記溶離液保持部の前記最内周部より外周側に位置する領域との合計の容積より少ない量の前記溶離液が前記核酸捕捉部を経て前記溶離液保持部に保持されるよう制御することを特徴とする核酸精製装置。

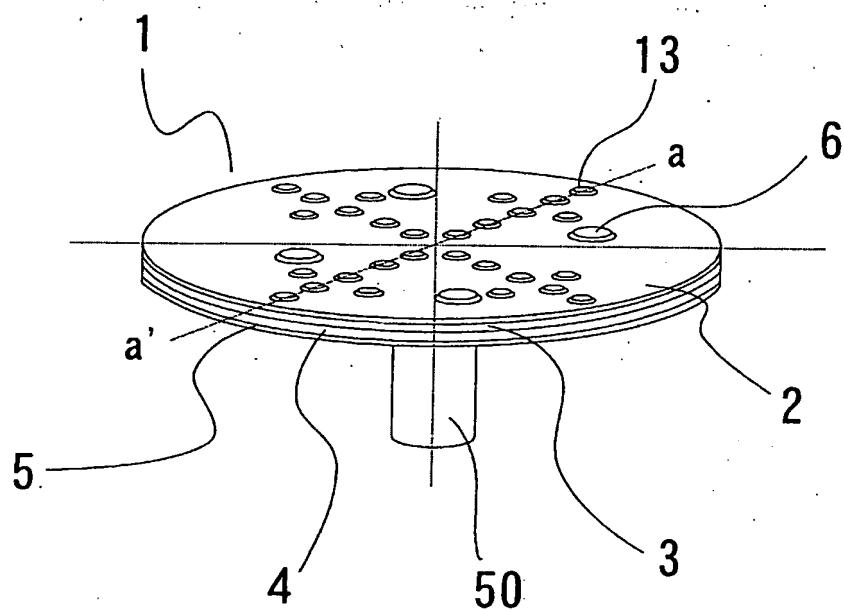
20. 化学物質精製構造体であって：
第一の化学物質を含む流体が供給される供給部と；
前記供給された流体中の前記化学物質が捕捉される第一の化学物質捕捉部
と；
前記第一の化学物質捕捉部に第一の試薬が供給される第一の試薬供給部
と；
前記第一の化学物質捕捉部を流過した前記第一の試薬が廃棄される廃棄部
と；

前記第一の化学物質捕捉部に前記第一の化学物質捕捉部から前記第一の化学物質を離す作用が前記第一の試薬より大きい第二の試薬が供給される第二試薬供給部と；そして、

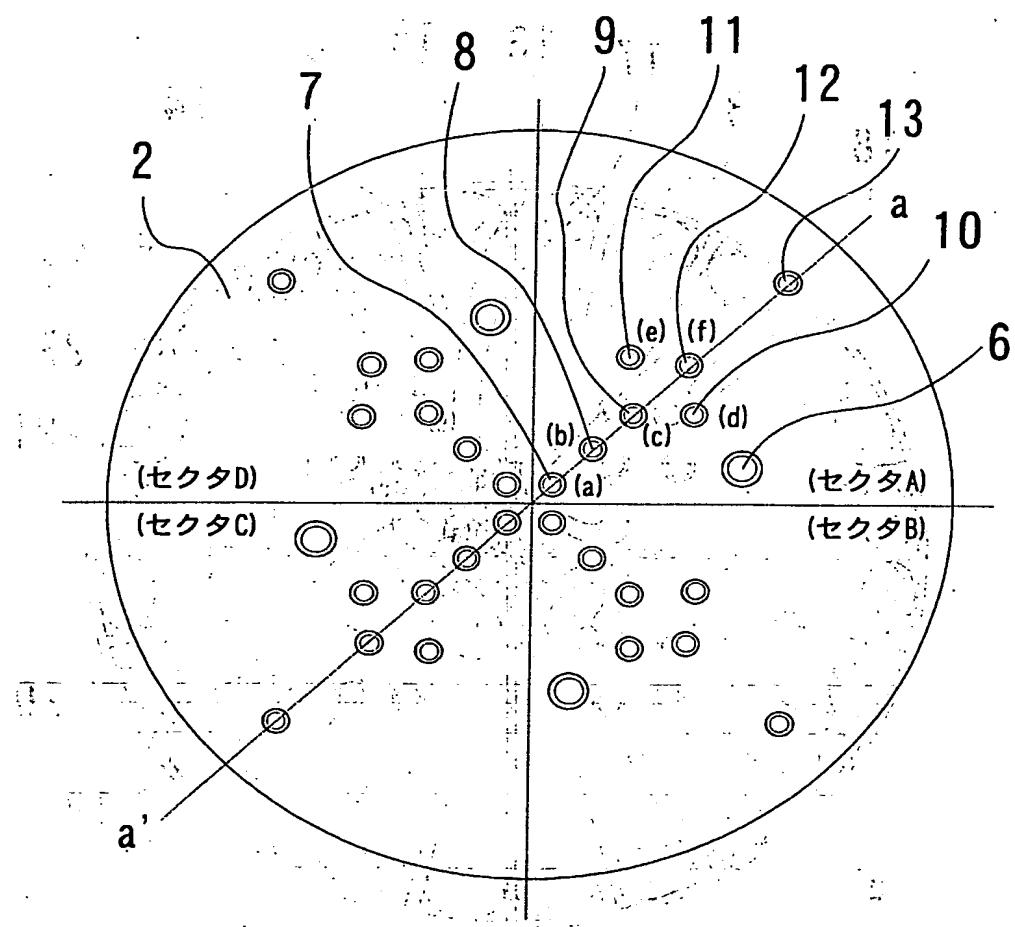
前記第一の化学物質捕捉部を通過し、前記第一の化学物質捕捉部で補足された第一の化学物質を前記第一の化学物質捕捉部から離して内部に含む前記第二の試薬を保持する第二の試薬保持部とを備え、

前記第二の試薬保持部は、前記第一の化学物質保持部と前記廃棄部とを連絡する流路に形成されることを特徴とする化学物質精製構造体。

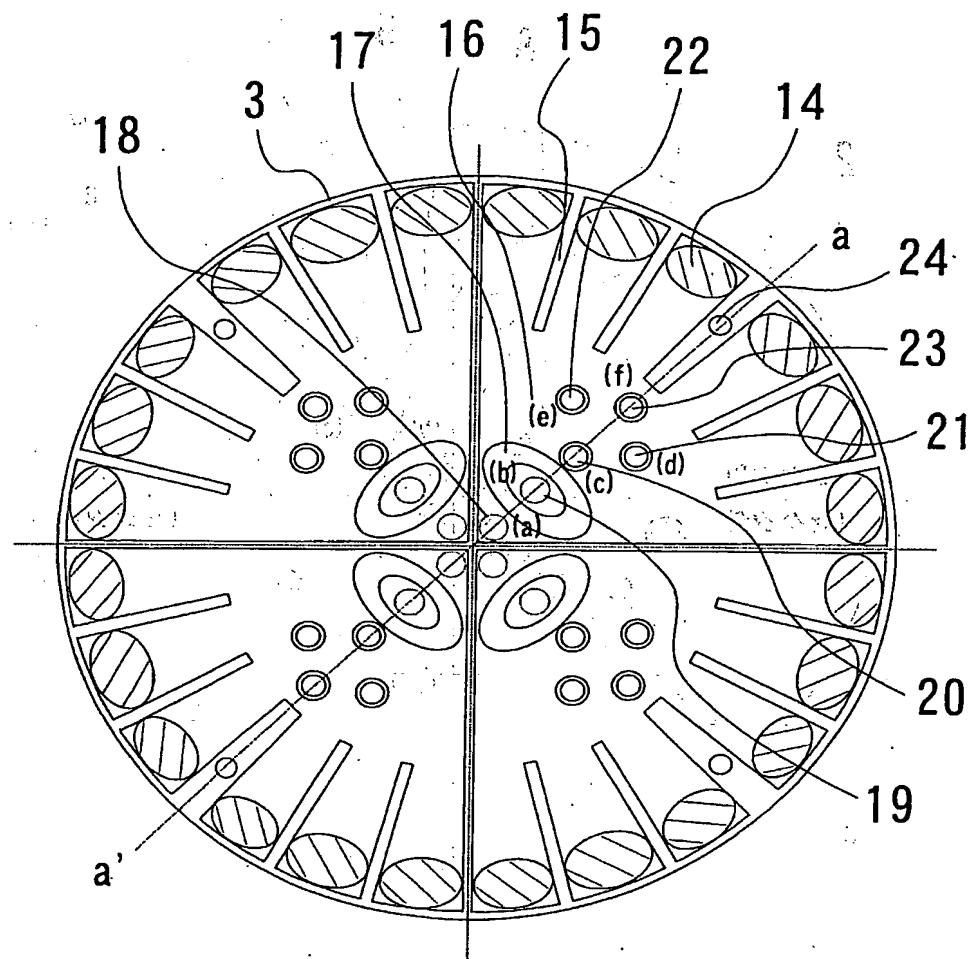
第1図



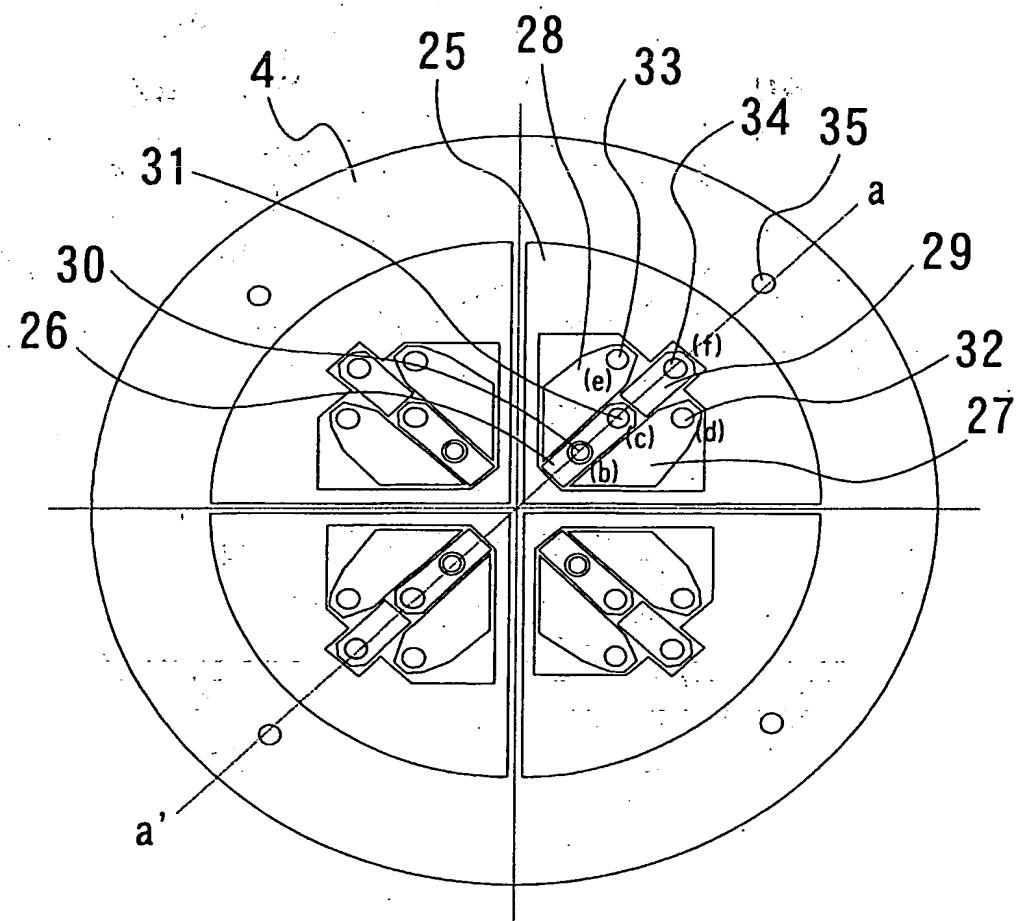
第2図



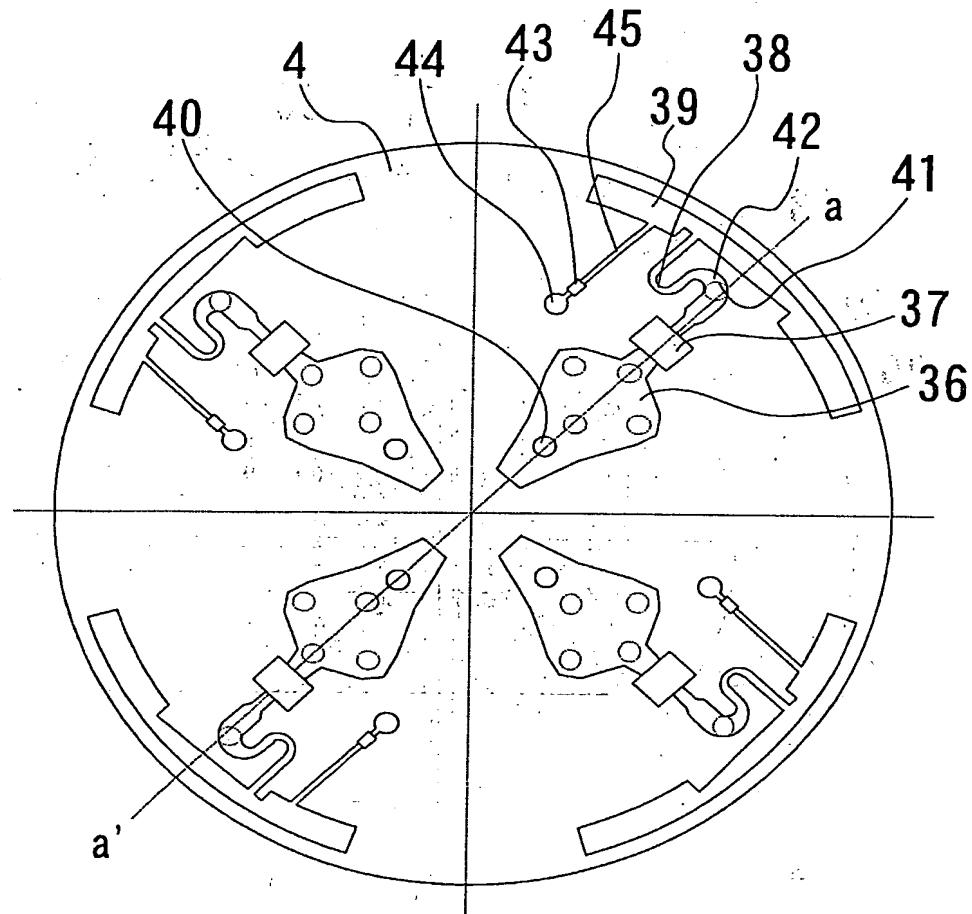
第3図



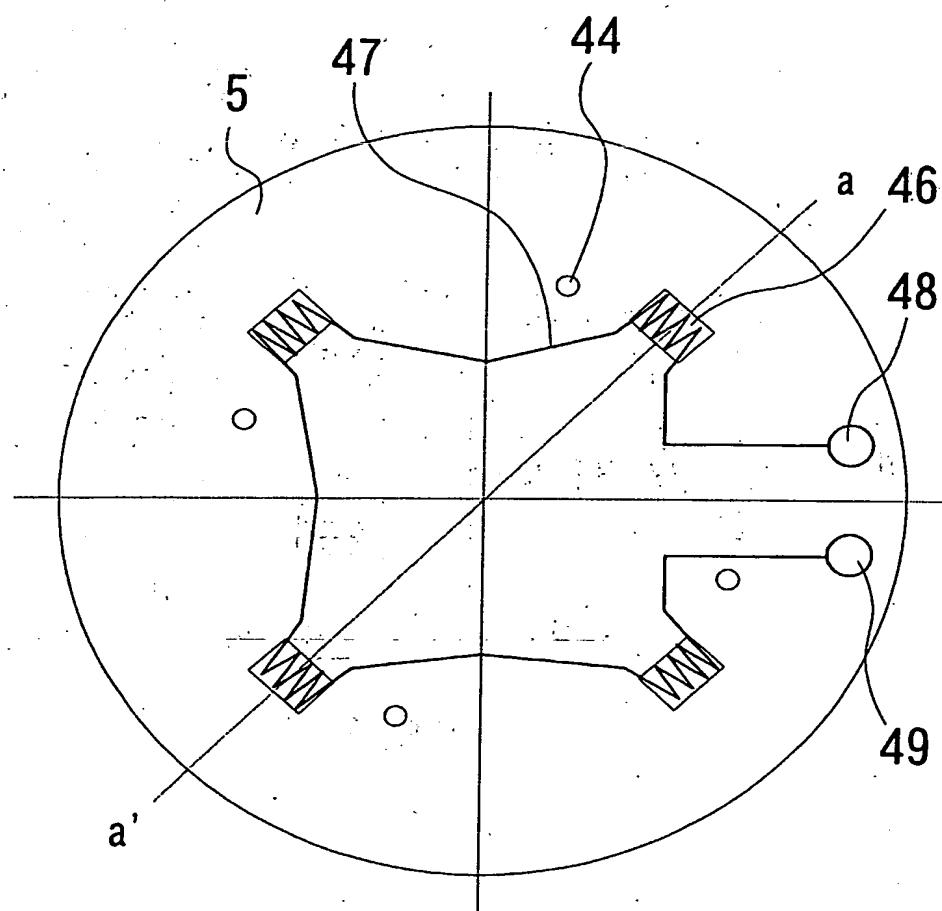
第4図



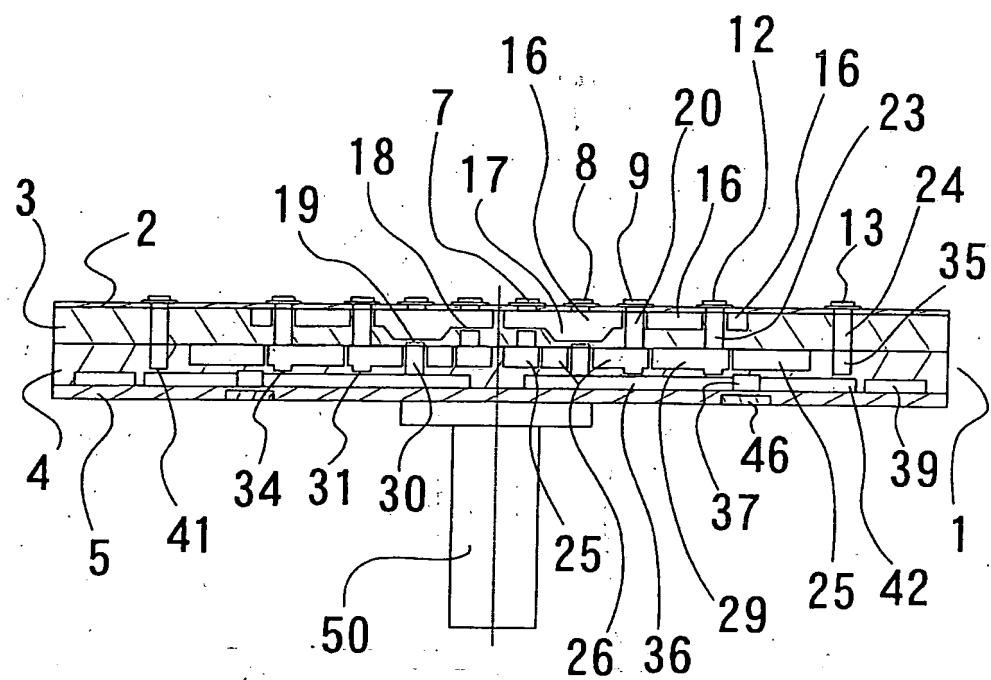
第5図



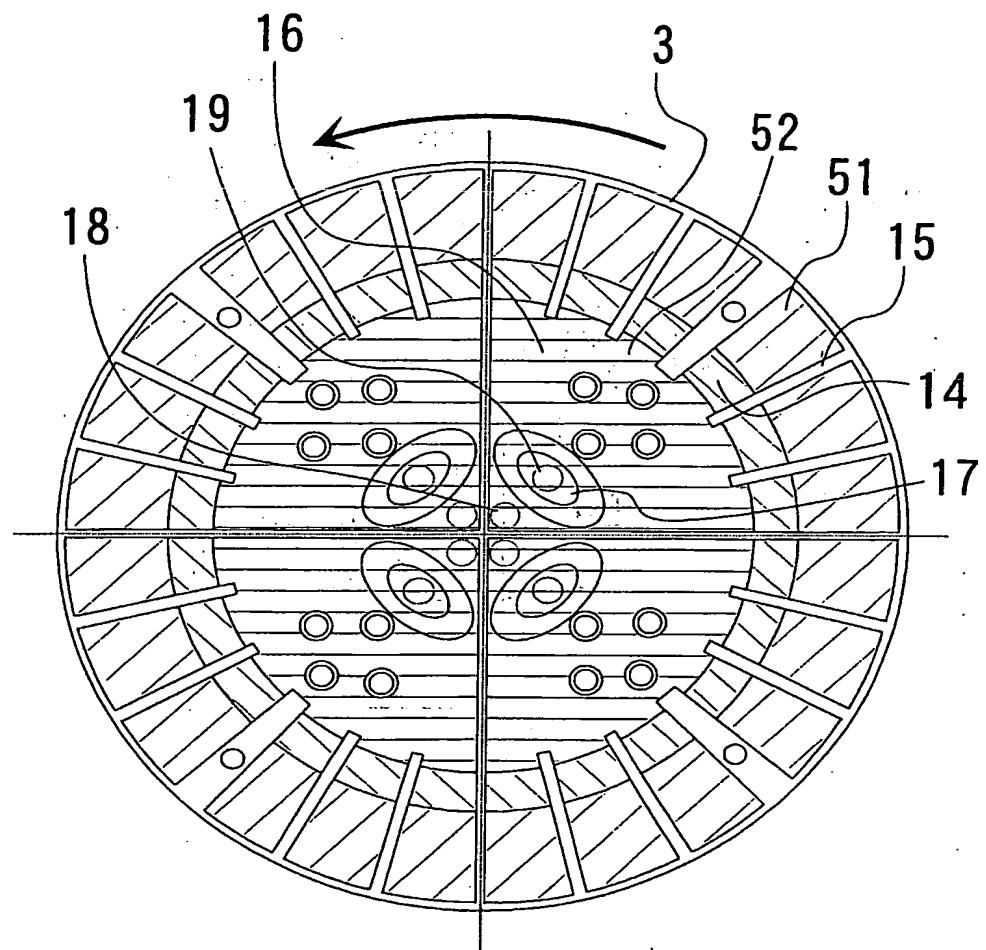
第6図



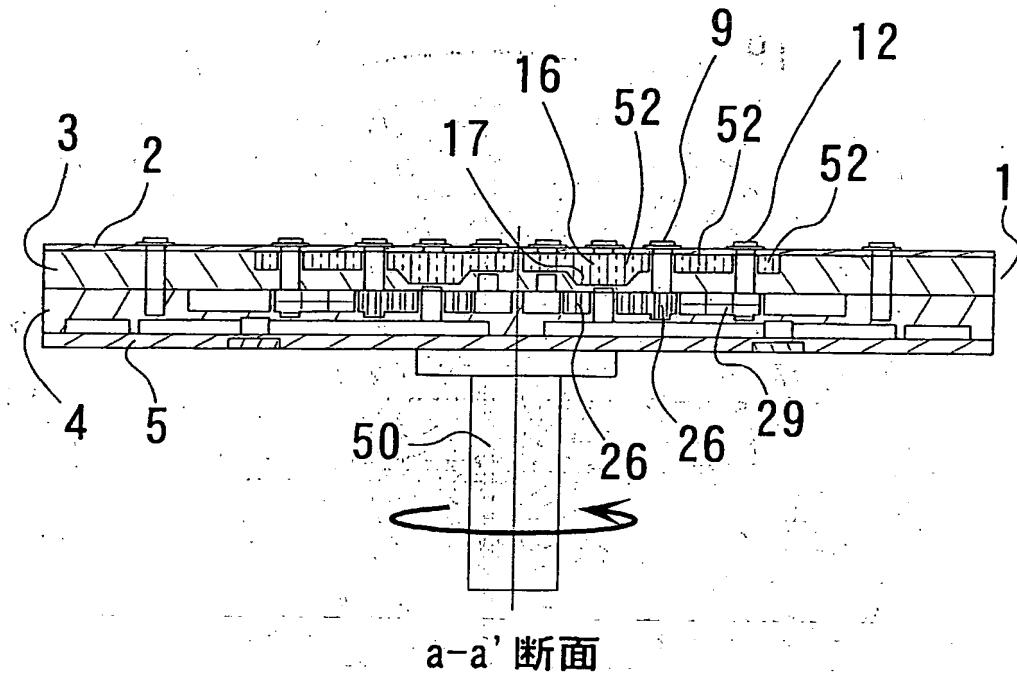
第7図



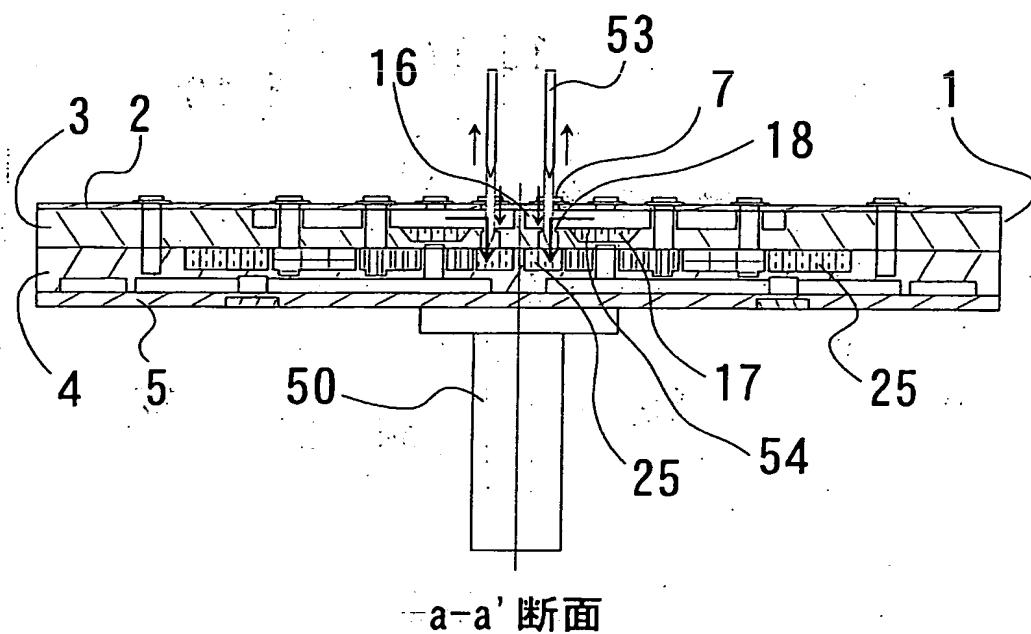
第8図



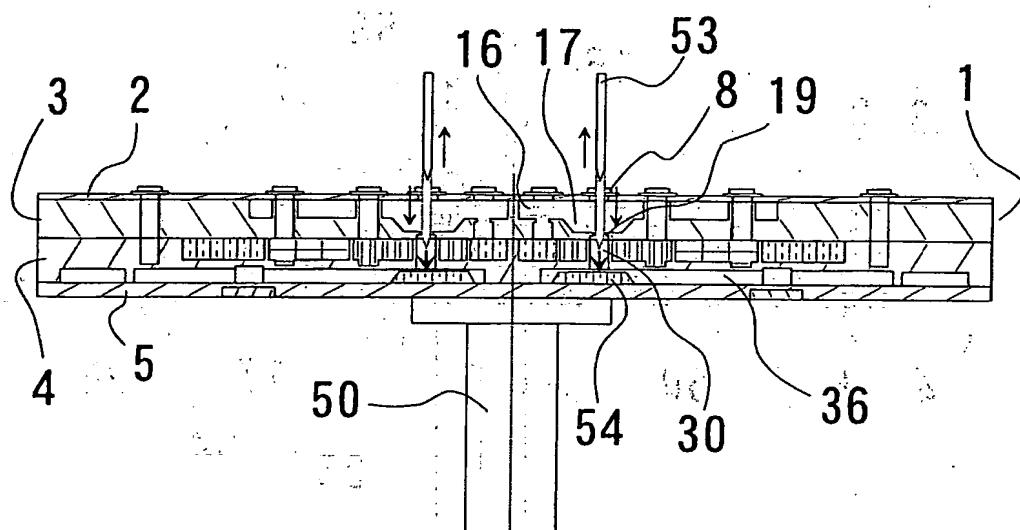
第9図



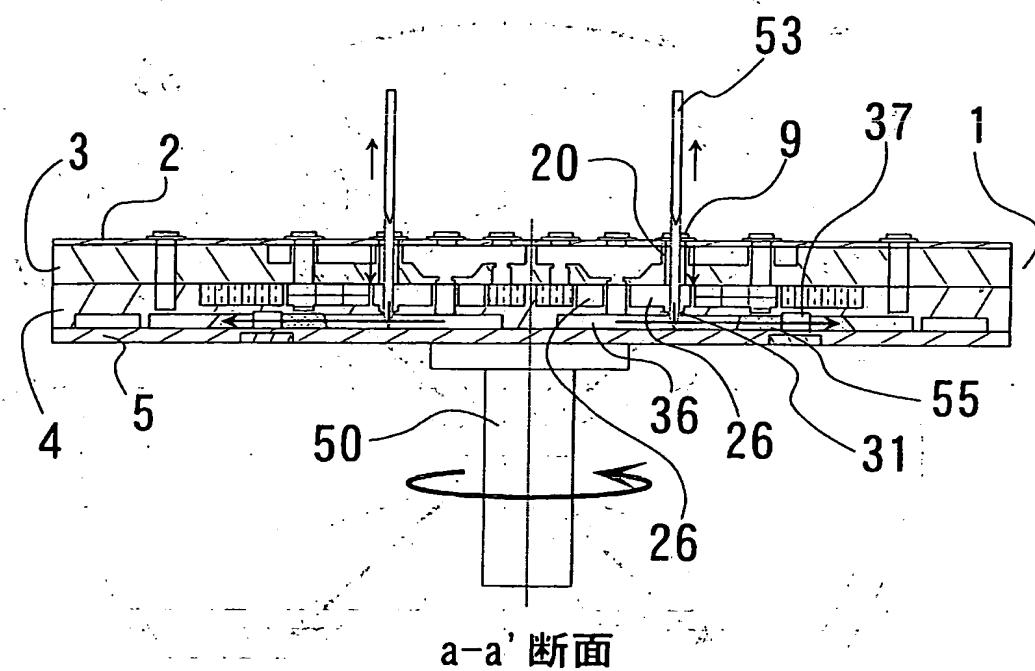
第10図



第11図

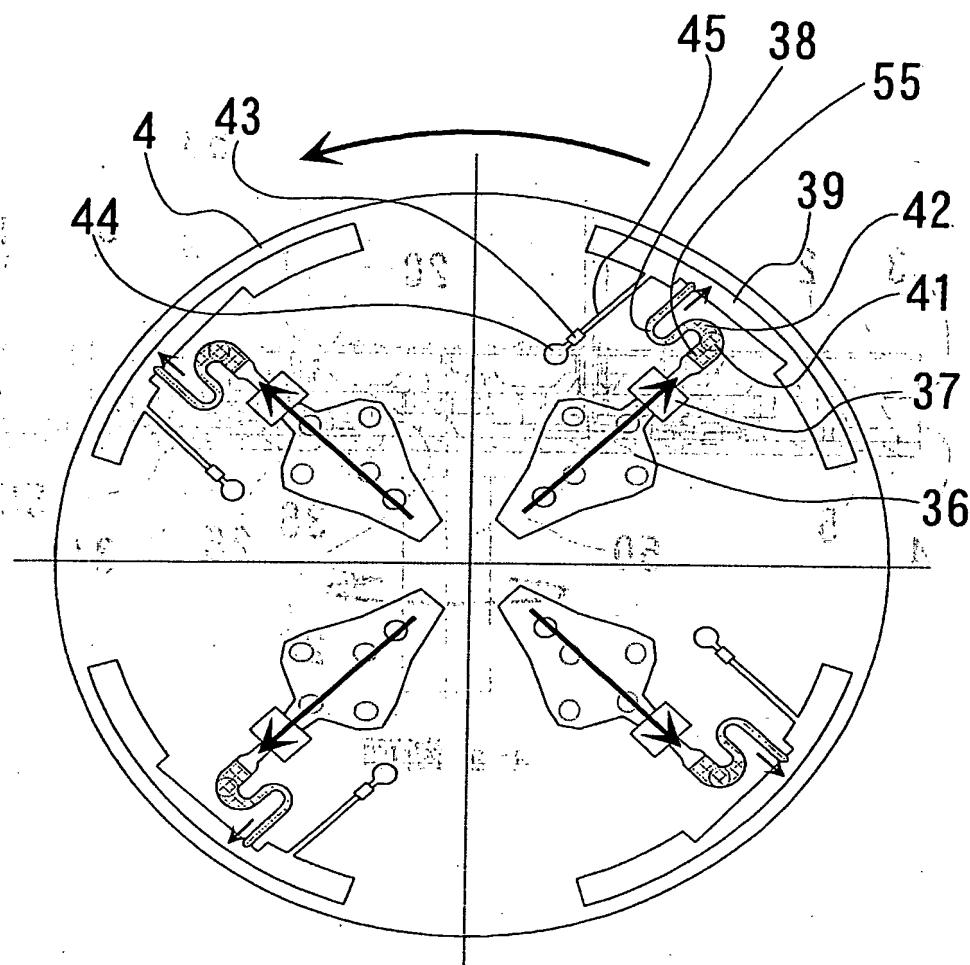


第12図

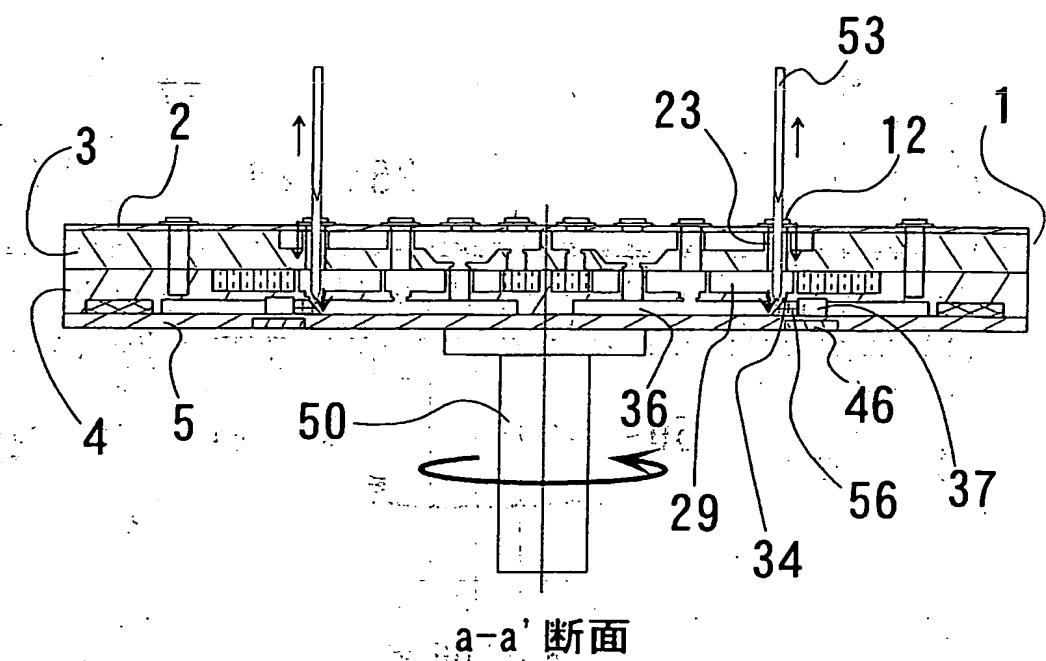


第13図

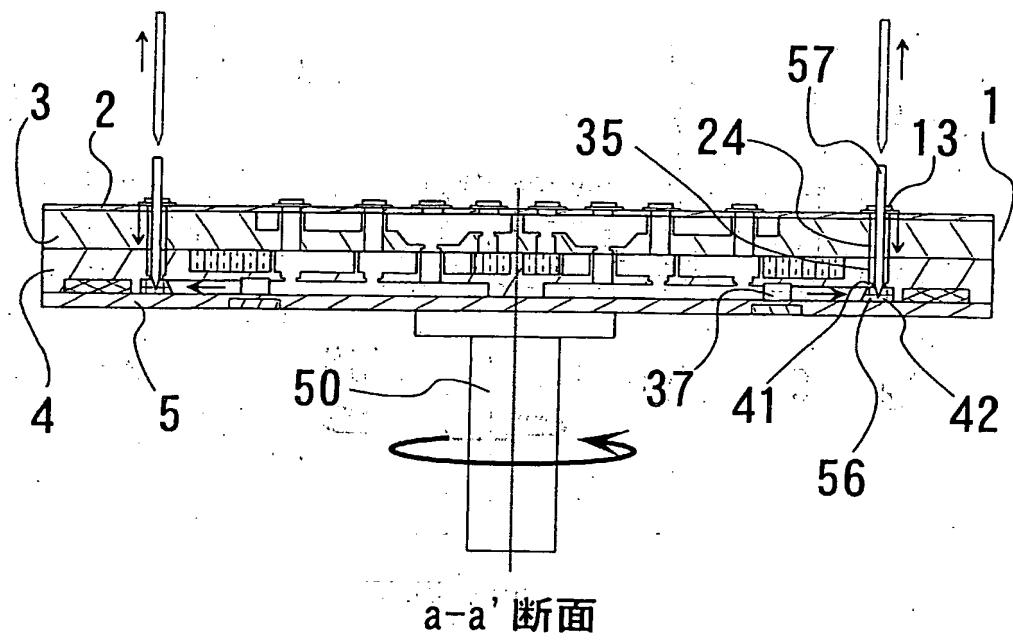
回転部



第14図



第15図



第16図

血清分離・定量

工程 1

- ・血液挿入ポート 6 から血液を注入
- ・血液を遠心分離
- ・必要量の血清 5 4 を溝 1 7 に保持

対応図：図 8, 図 9, 図 10

核酸結合

工程 2

- ・溝 1 7 の血清 5 4 が混合用流路 3 6 に移動
- ・結合液が混合用流路 3 6 に移動
- ・血清 5 4 と結合液とを混合攪拌
- ・混合液 5 5 が担体 3 7 を通過
- ・核酸が担体 3 7 に結合
- ・混合液 5 5 が廃液溜め 3 9 に移動

対応図：図 1-1, 図 1-2, 図 1-3

担体洗浄

工程 3

- ・洗浄液 A が担体 3 7 を通過
- ・洗浄液 A が廃液溜め 3 9 に移動
- ・洗浄液 B が担体 3 7 を通過
- ・洗浄液 B が廃液溜め 3 9 に移動

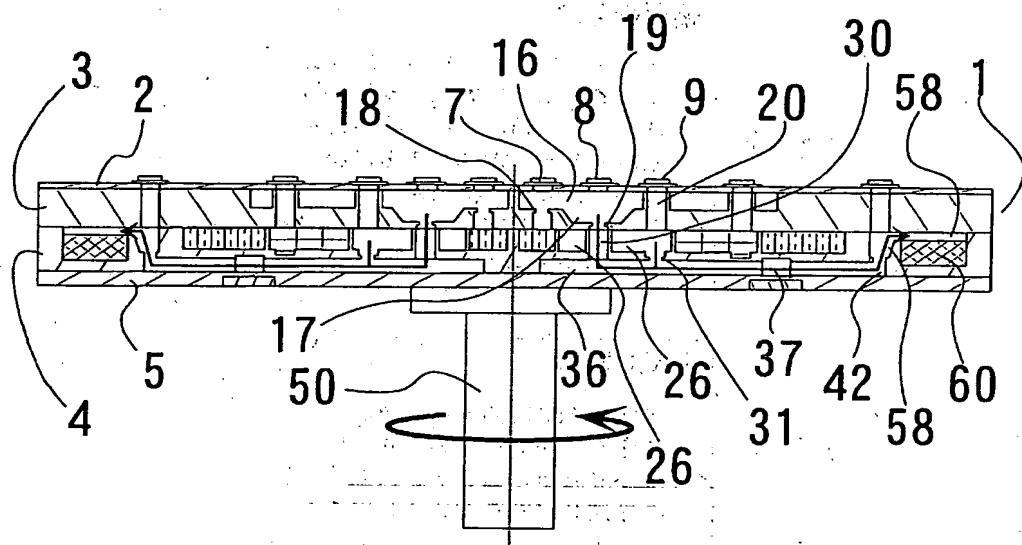
核酸溶離・回収

工程 4

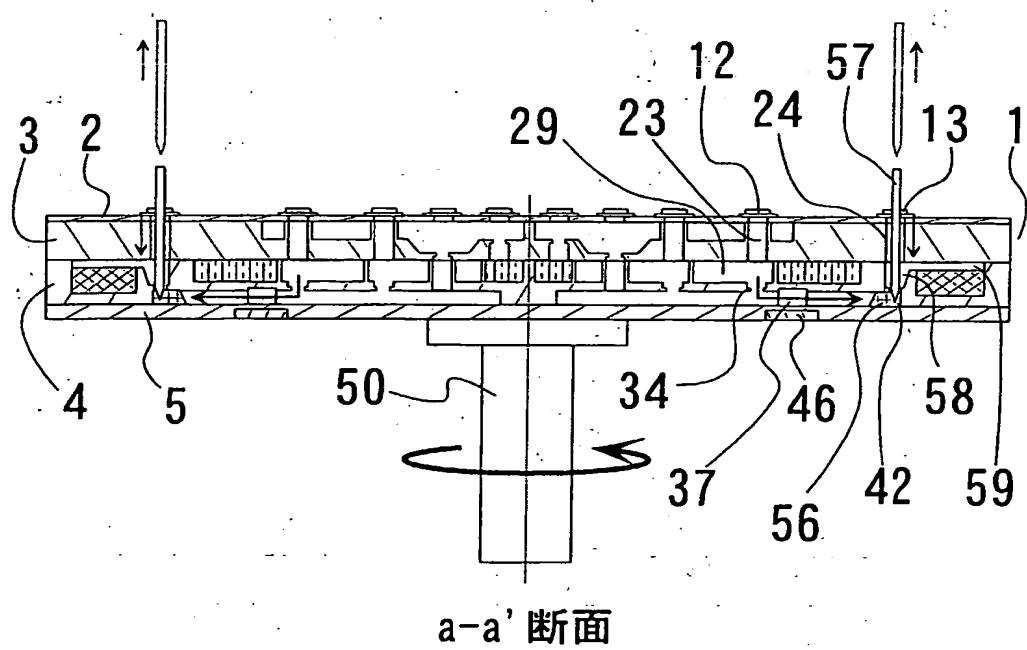
- ・溶離液 5 6 が混合用流路 3 6 に移動
- ・溶離液 5 6 を担体 3 7 に保持
- ・溶離液 5 6 を加熱
- ・溶離液 5 6 が回収溶離液溜め 4 2 に移動
- ・溶離液回収ポート 1 3 から溶離液 5 6 を回収

対応図：図 1-4, 図 1-5

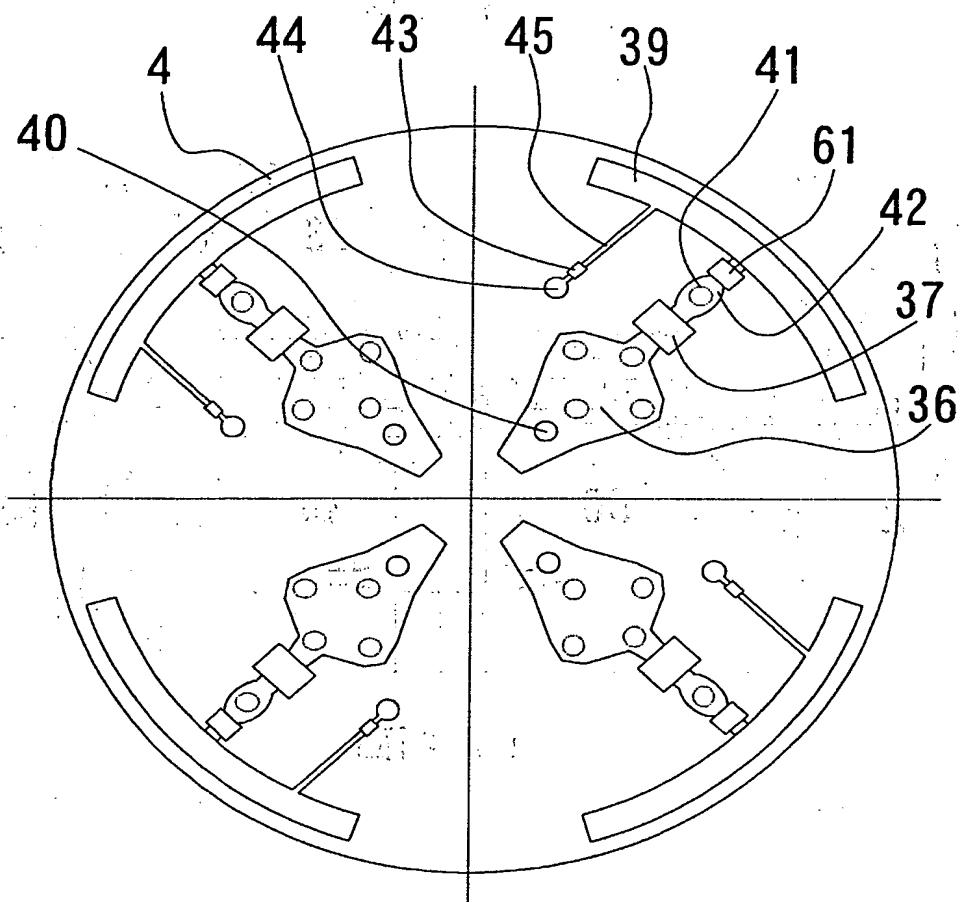
第17図



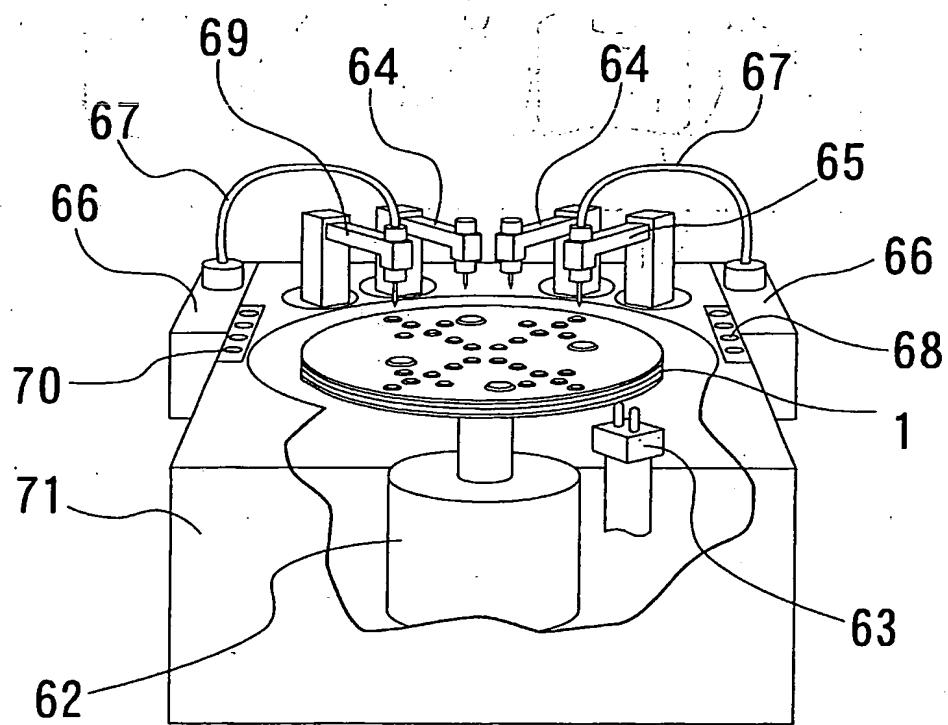
第18図



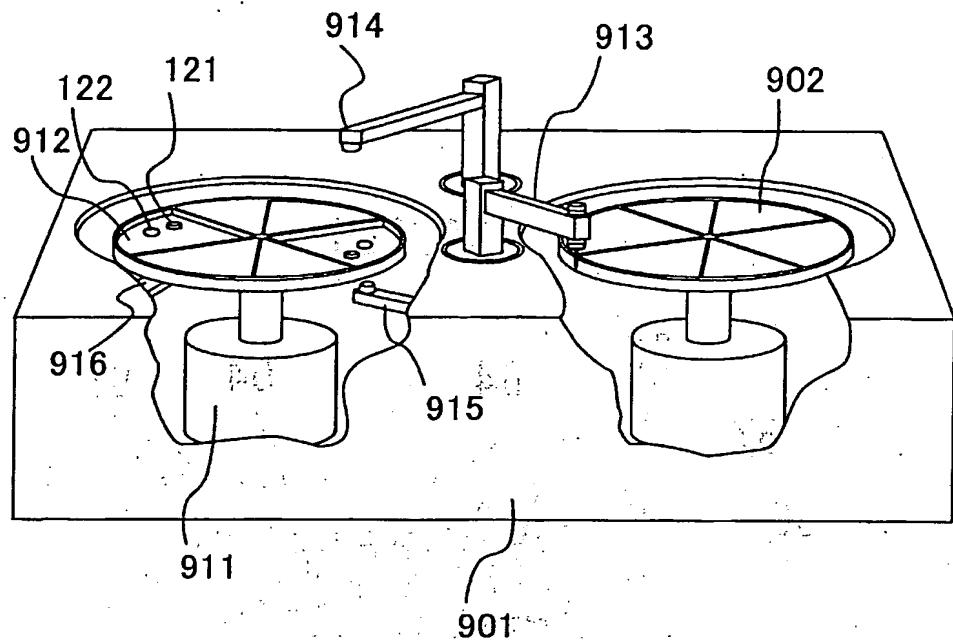
第19図



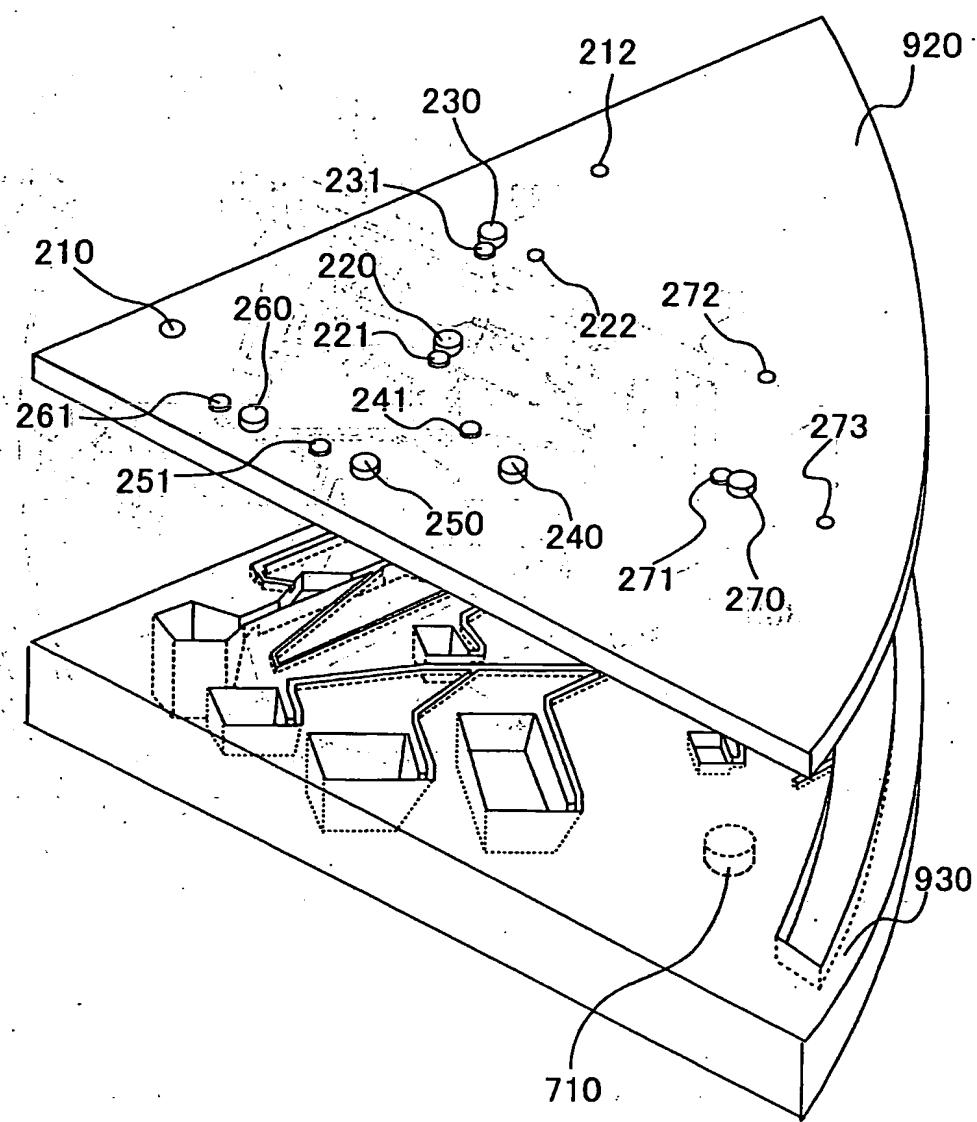
第20図



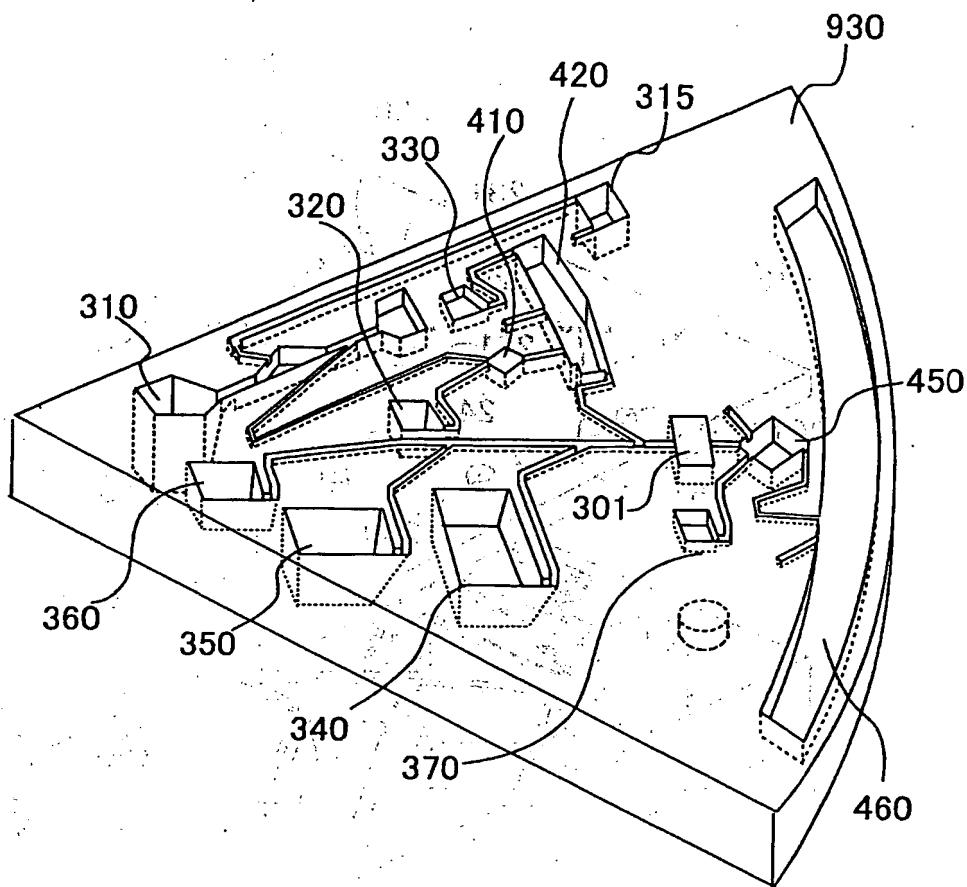
第21図



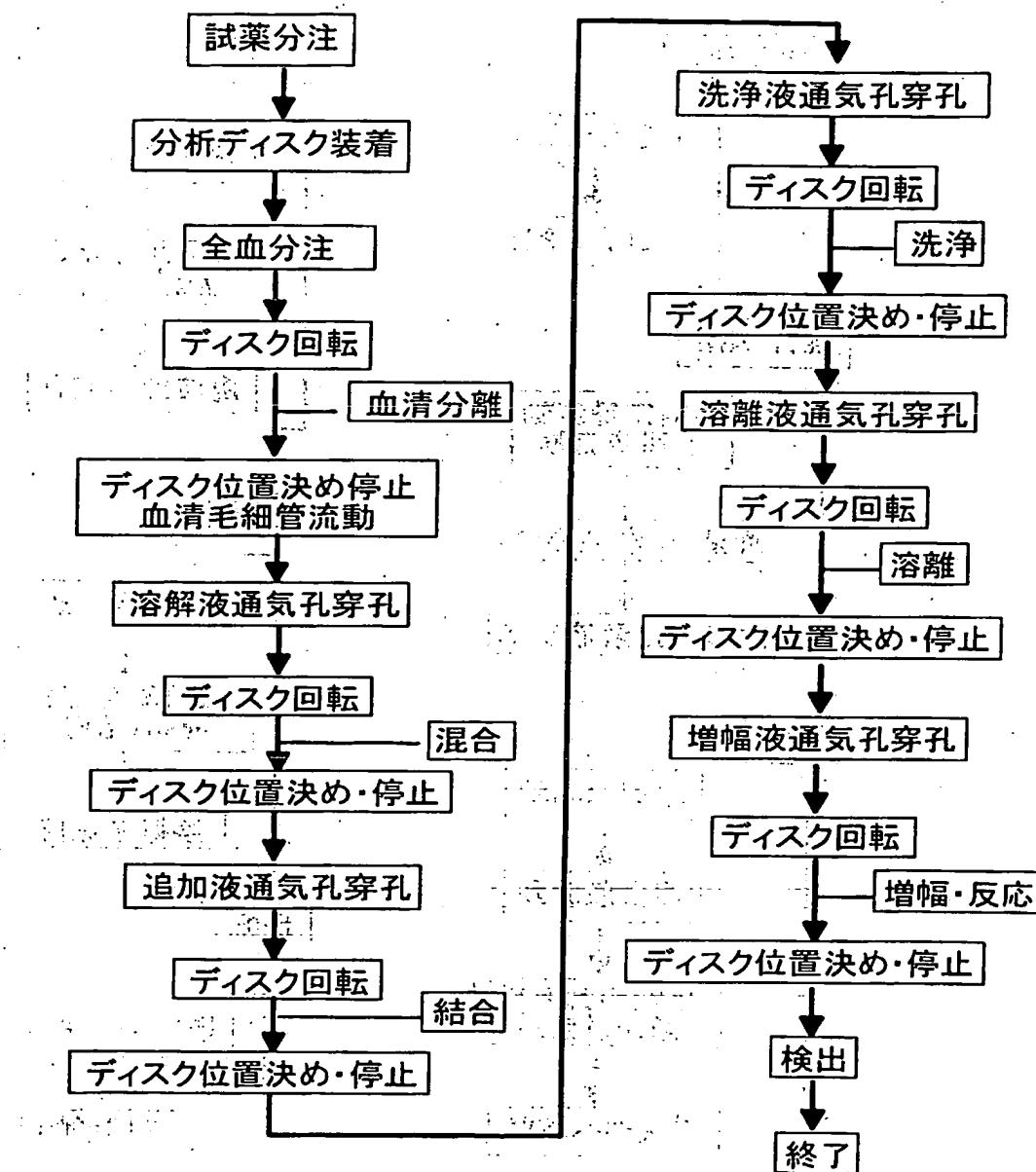
第22図



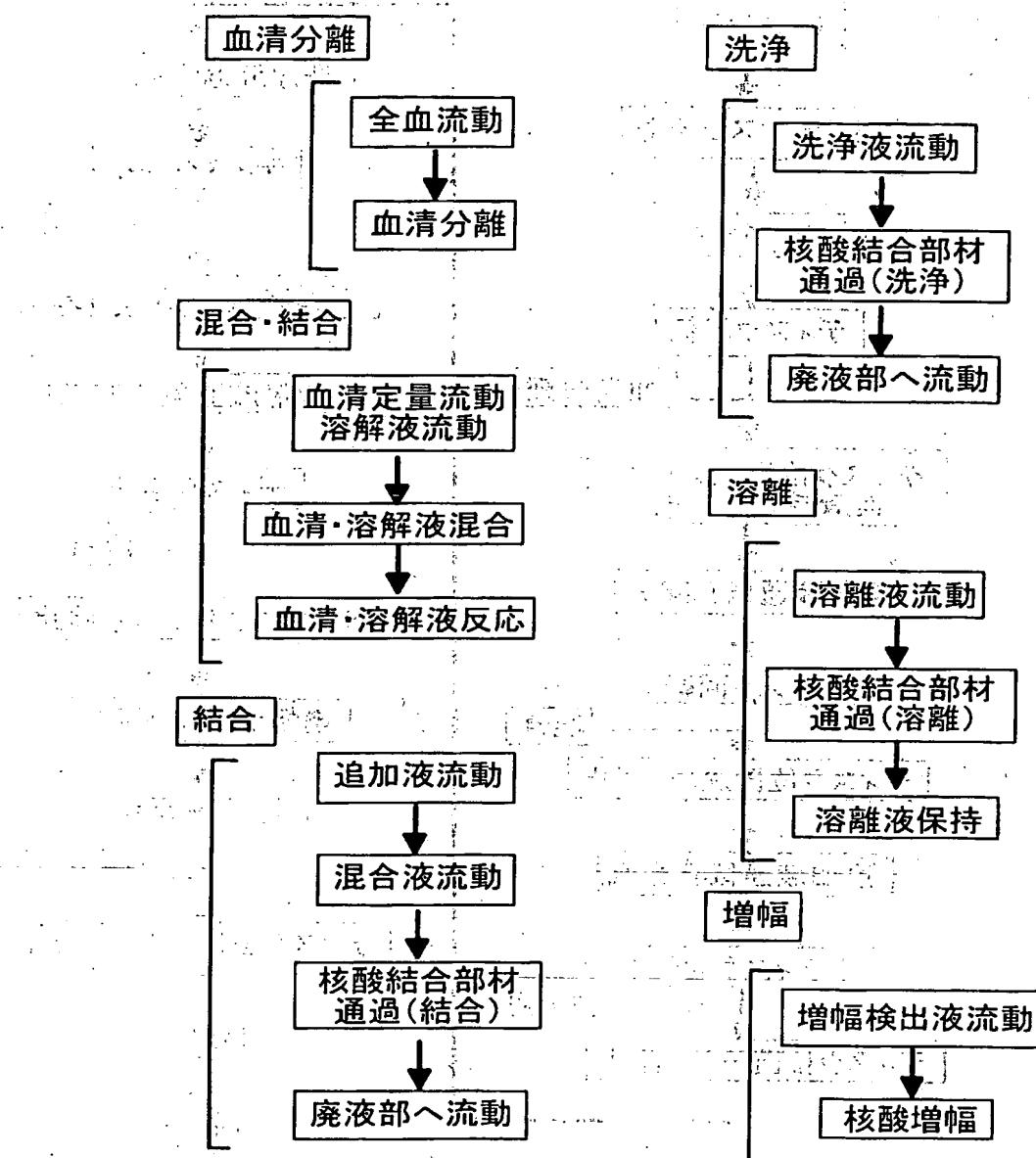
第23図



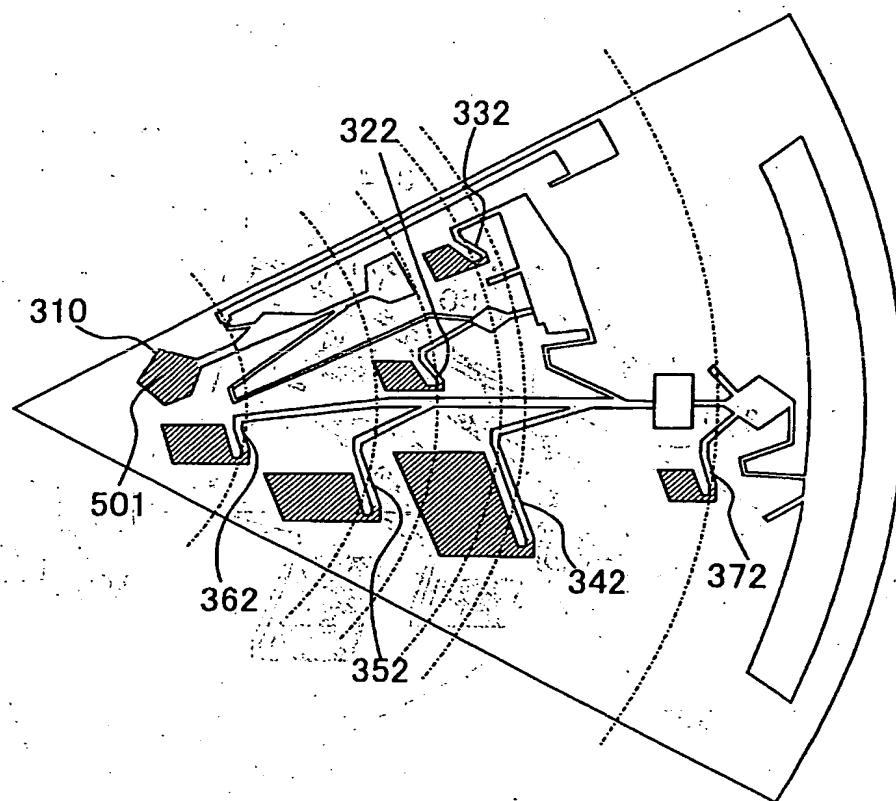
第24図



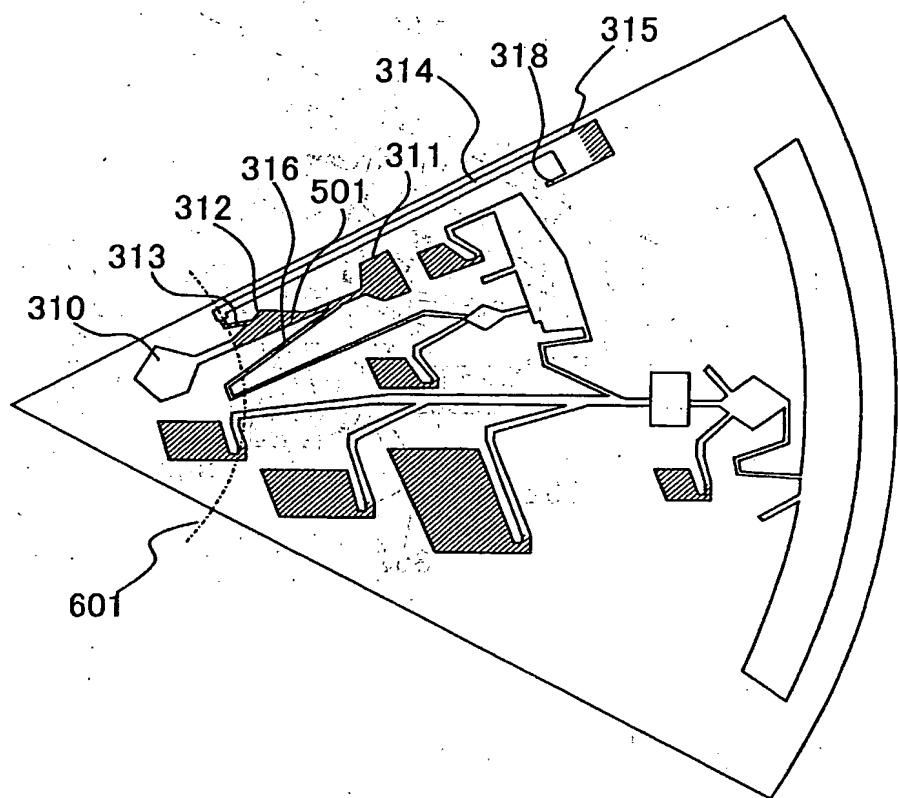
第25図



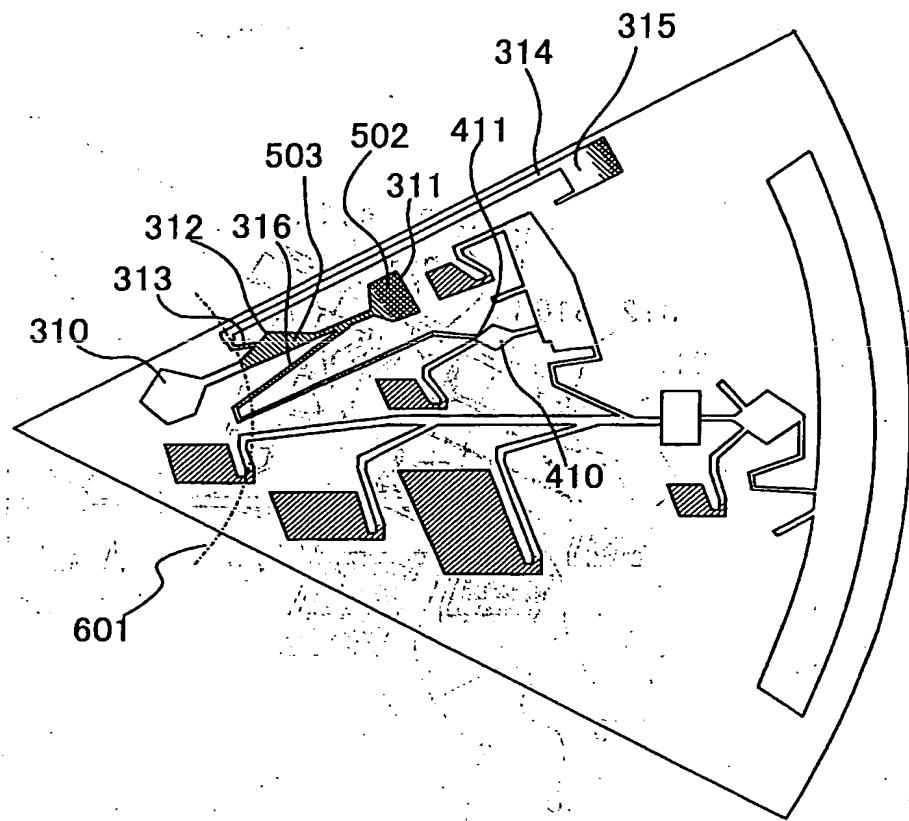
第26図



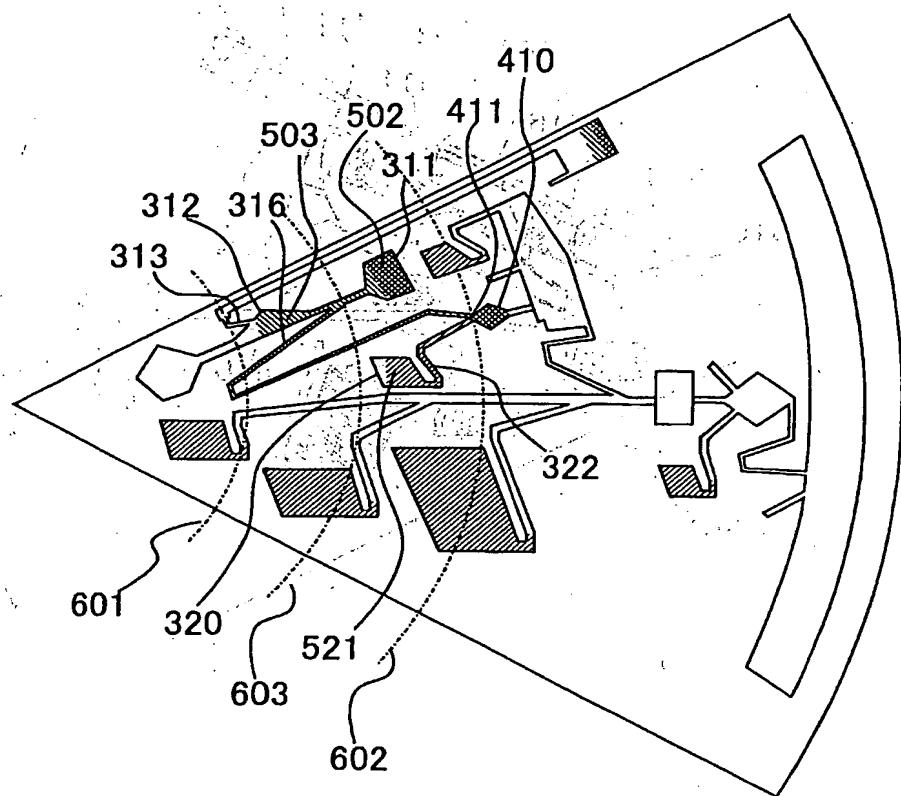
第27図



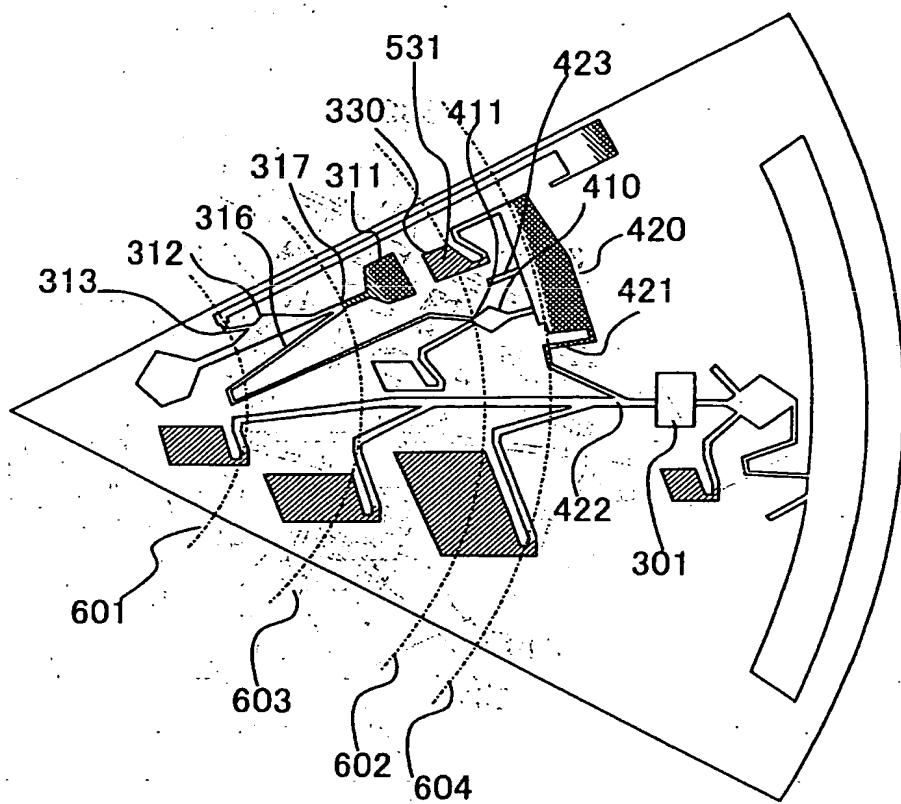
第28図



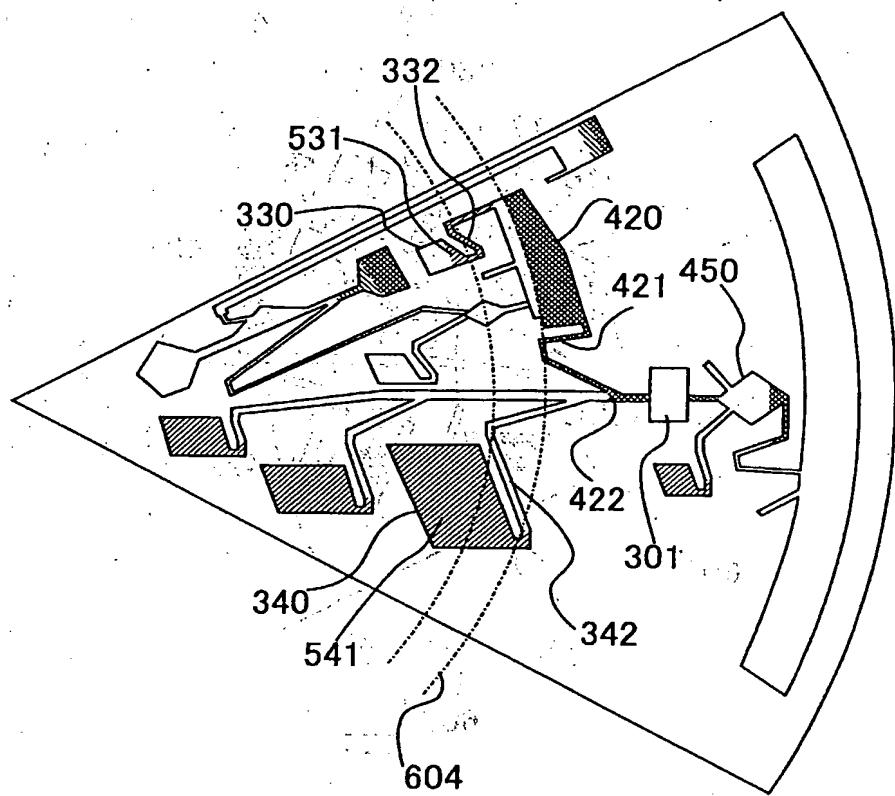
第29図



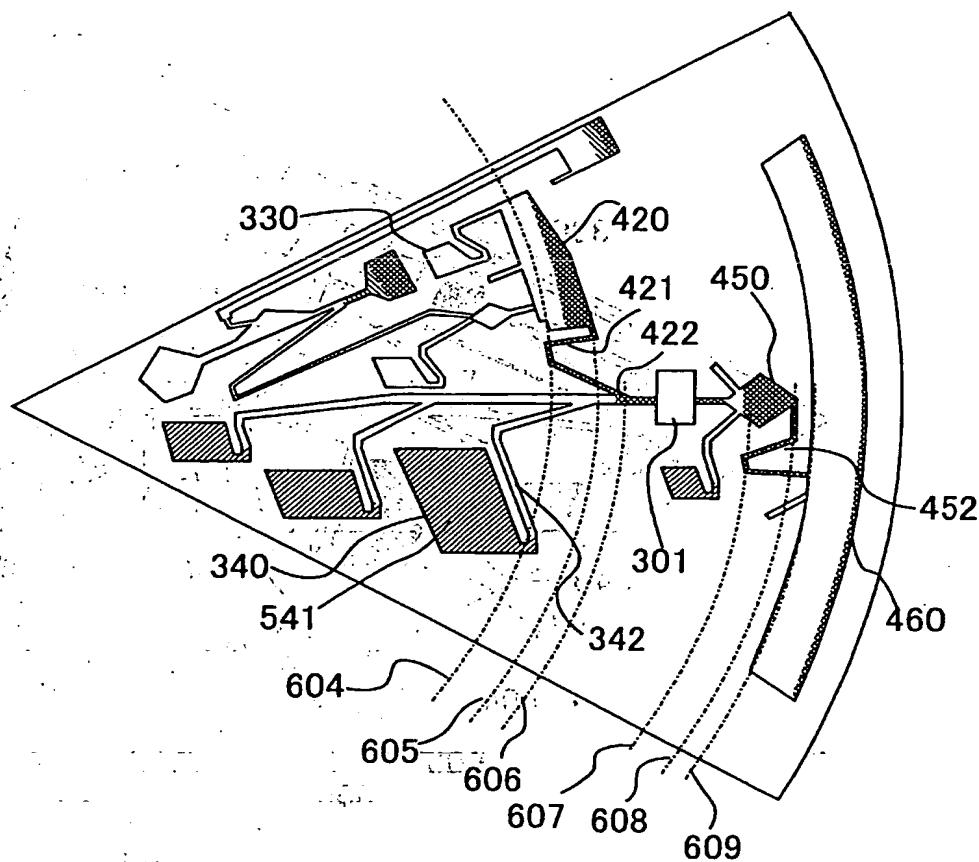
第30図



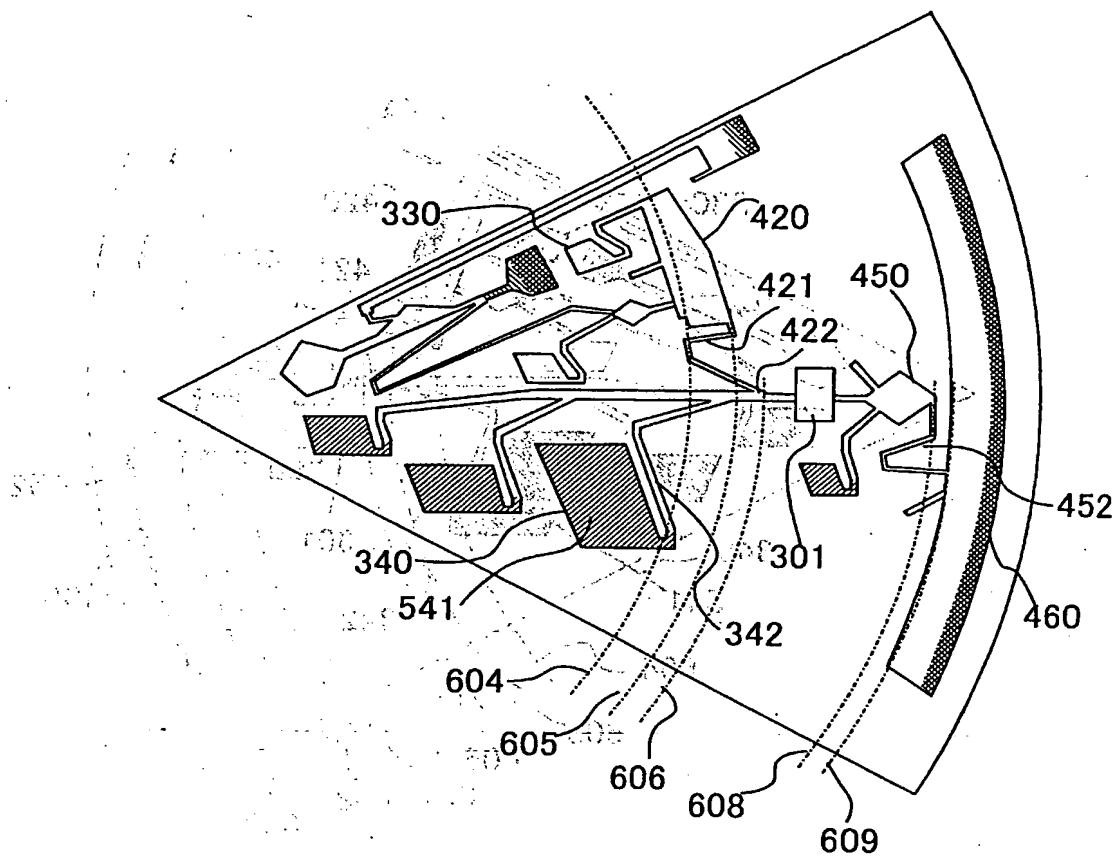
第31図



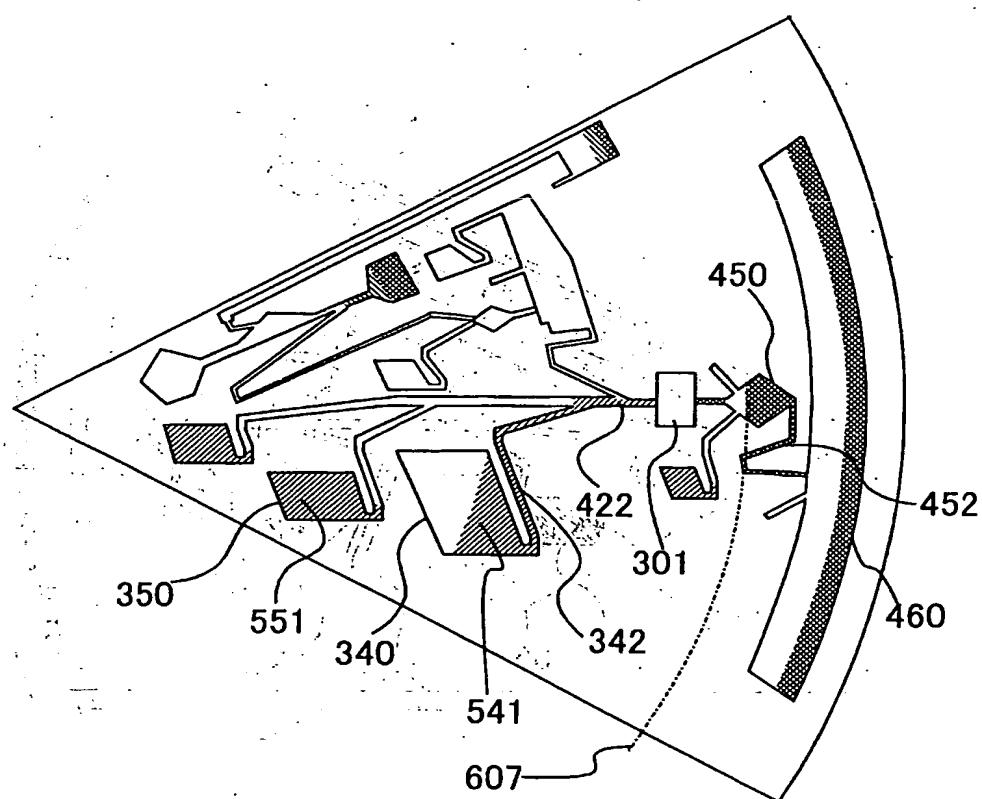
第32図



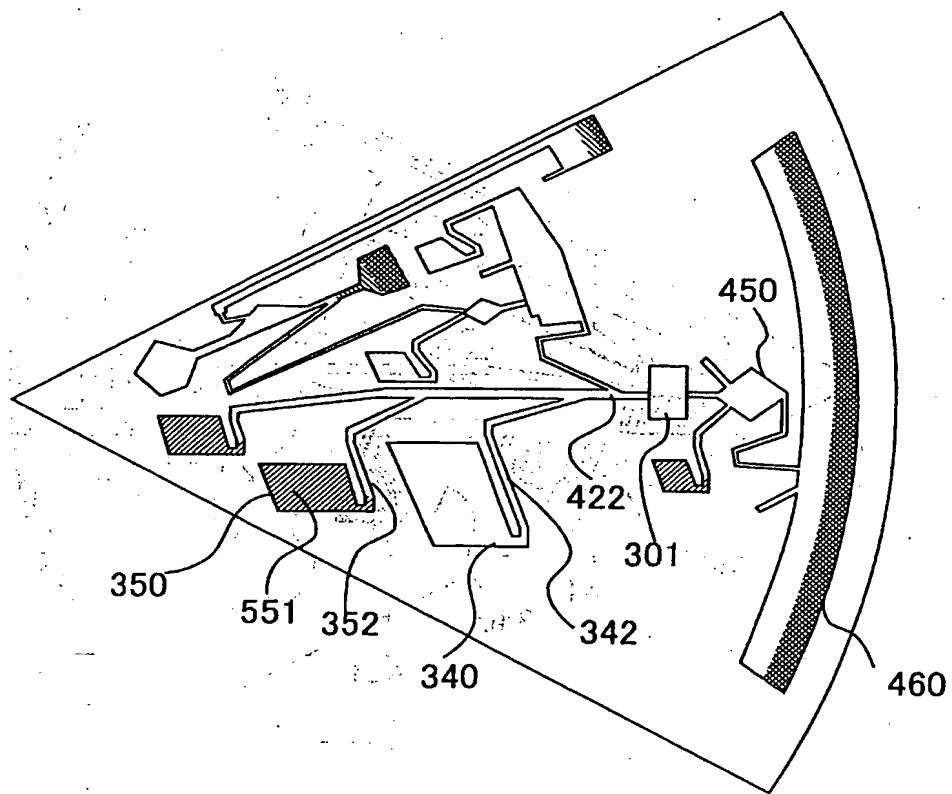
第33図



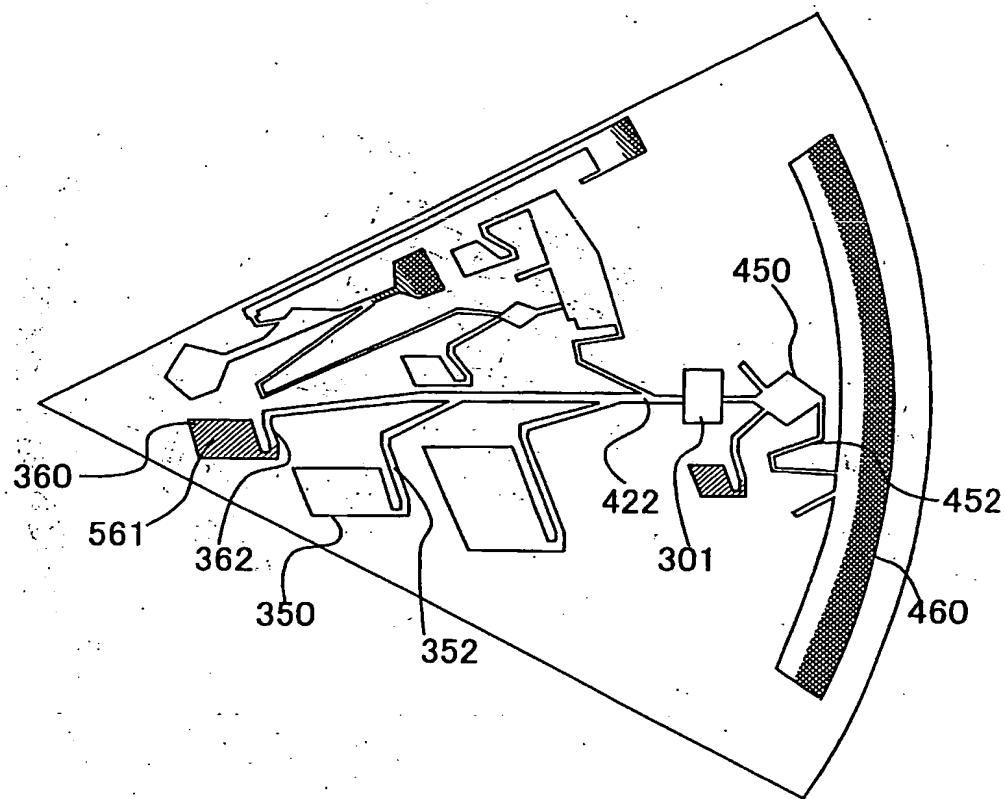
第34図



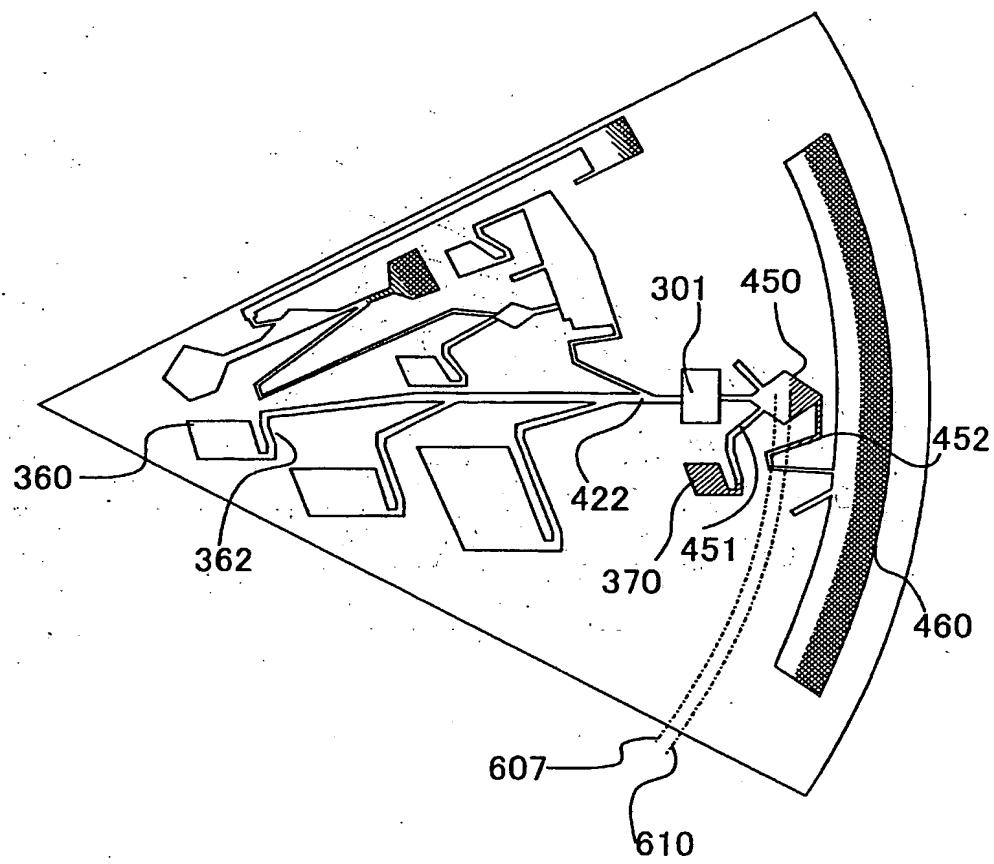
第35図



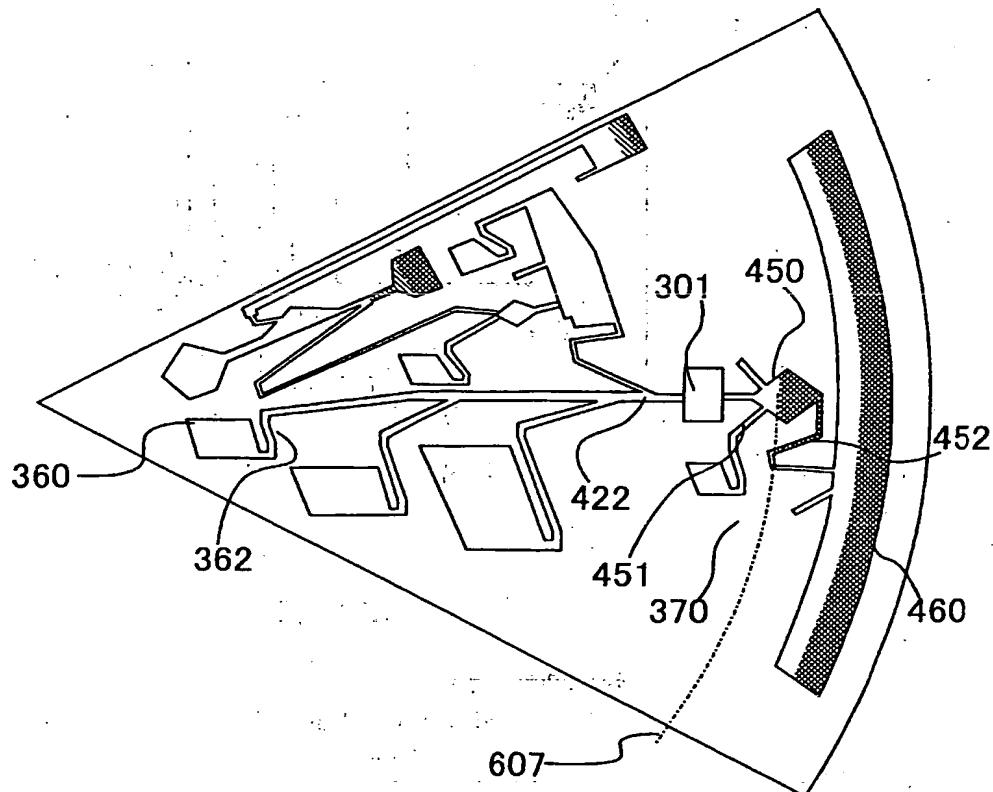
第36図



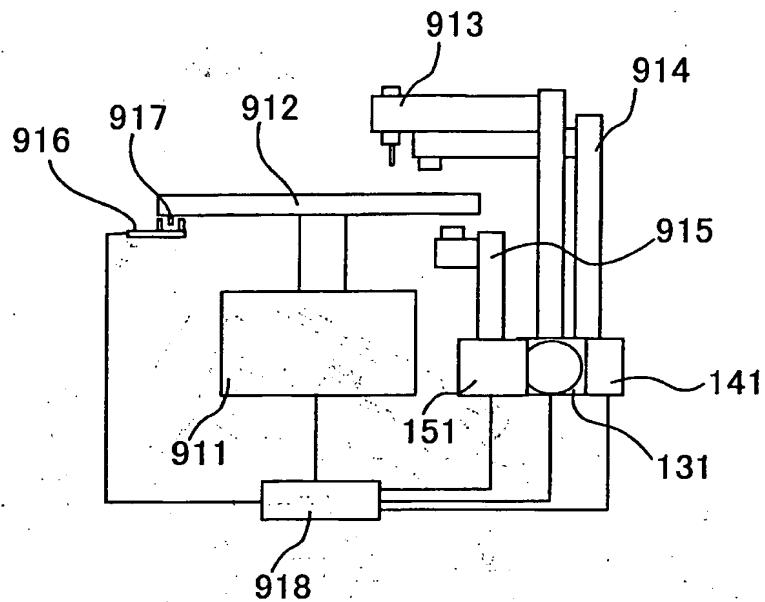
第37図



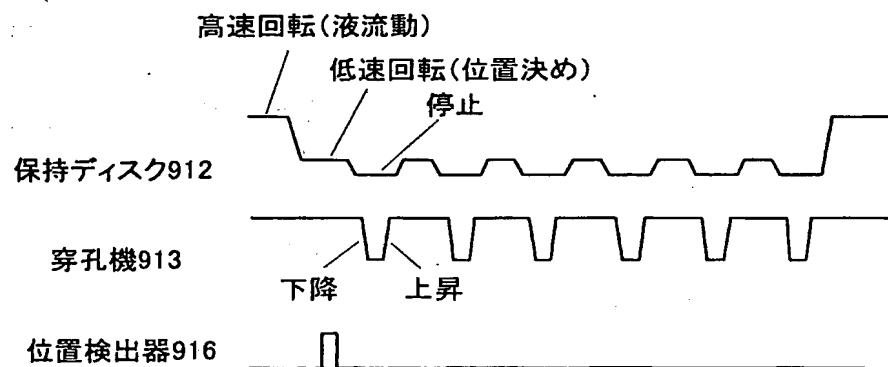
第38図



第39図



第40図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/05079

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12N15/00, C01M1/00, C07B63/00, C07H21/00, C07K1/22

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12N15/00, C01M1/00, C07B63/00, C07H21/00, C07K1/22

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA/BIOSIS/WPIDS/MEDLINE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 97/32645 A1 (Akzo Nobel N.V.), 12 September, 1997 (12.09.97), Claims; examples & EP 885039 A1 & JP 2000-507297 A	20 1-20
Y	JP 11-266864 A (Hitachi, Ltd.), 05 October, 1999 (05.11.99), Claims; examples & US 20020007054 A1	1-20
Y	WO 99/13976 A1 (Gentra Systems Inc.), 25 March, 1999 (25.03.99), Claims; examples & EP 1027145 A1 & JP 2001-516731 A	1-20

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

• Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
---	--

Date of the actual completion of the international search
23 August, 2002 (23.08.02)Date of mailing of the international search report
10 September, 2002 (10.09.02)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP02/05079

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 11-215978 A (Toyobo Co., Ltd.), 10 August, 1999 (10.08.99), Claims; examples & EP 933132 A1 & US 6255478 B1	1-20
Y	EP 693560 A1 (Becton Dickinson Co.), 24 January, 1996 (24.01.96), Claims; examples; drawings & US 5639428 A & JP 8-62225 A	1-20
A	WO 96/15450 A1 (David Sarnoff Research Center Inc.), 23 May, 1996 (23.05.96), Claims; examples; drawings & EP 808456 A1 & JP 11-500602 A	1-20
A	US 3395093 A (Research Corp.), 30 July, 1968 (30.07.68), Claims; examples; drawings (Family: none)	1-20
P,A	JP 2001-333763 A (Hitachi Koki Co., Ltd.), 04 December, 2001 (04.12.01), Claims; examples; drawings (Family: none)	1-20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/05079

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The feature common to claims 1 to 19 and claim 20 resides in a construct for purifying a chemical (more specifically, a nucleic acid) which is provided with a member of supplying the chemical, a member of capturing the chemical, a member of supplying a reagent, a member of discharging the reagent and a member of holding the reagent. However, Japanese Patent Laid-Open No. 266864/1999 and International Patent Publication 97/32645 pamphlets, which had been publicly known before the priority date of the present case, disclose an apparatus for purifying nucleic acid which is provided with a member of supplying a sample containing a nucleic acid, a solid phase binding to the nucleic acid, containers for supplying reagents (continued to extra sheet)

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP02/05079

Continuation of Box No.II of continuation of first sheet(1)

such as a binding reagent, a washing liquor and an eluting agent, a member of discharging these reagents and a member of holding the reagent containing the nucleic acid. Such being the case, the common feature as described above had been publicly known prior to the priority date of the present application and, therefore, cannot be considered as a special technical feature over the prior art.

Therefore, the two groups of the inventions as set forth in claims 1 to 19 and the invention as set forth in claim 20 cannot be considered as relating to a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JPO2/05079

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int Cl. 7 C12N15/00, C01M1/00, C07B63/00, C07H21/00, C07K1/22

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int Cl. 7 C12N15/00, C01M1/00, C07B63/00, C07H21/00, C07K1/22

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA/BIOSIS/WPIDS/MEDLINE(STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	WO 97/32645 A1 (AKZO NOBLE N.V) 1997.09.12, 特許請求の範囲、実施例等参照, & EP 885039 A1 & JP 2000-507297 A	20 1-20
Y	JP 11-266864 (株式会社日立製作所) 1999.10.05, 特許請求の範囲、実施例等参照, & US 20020007054 A1	1-20
Y	WO 99/13976 A1 (GENTRA SYSTEMS INC.) 1999.03.25, 特許請求の範囲、実施例等参照, & EP 1027145 A1 & JP 2001-516731 A	1-20

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

23.08.02

国際調査報告の発送日

10.09.02

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

坂崎 恵美子

4N 9451



電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C (続き) 関連すると認められる文献		関連する 請求の範囲の番号
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	
Y	JP 11-215978 A (東洋紡績株式会社) 1999.08.10, 特許請求の範囲、実施例等参照, & EP 933132 A1 & US 6255478 B1	1-20
Y	EP 693560 A1 (BECTON DICKINSON CO) 1996.01.24, 特許請求の範囲、実施例及び図等参照, & US 5639428 A & JP 8-62225 A	1-20
A	WO 96/15450 A1 (DAVID SARNOFF RESEARCH CENTER INC.) 1996.05.23, 特許請求の範囲、実施例及び図等参照, & EP 808456 A1 & JP 11-500602 A	1-20
A	US 3395093 A (Research Corporation) 1968.07.30, 特許請求の範囲、実施例及び図等参照, (ファミリーなし)	1-20
P, A	JP 2001-333763 A (日立工機株式会社) 2001.12.04, 特許請求の範囲、実施例及び図等参照, (ファミリーなし)	

第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT第17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

請求の範囲1～19と請求の範囲20に共通する特徴は、化学物質（具体的には、核酸）の供給部、化学物質の捕捉部、試薬供給部、試薬の廃棄部、試薬の保持部を備えた化学物質精製構造体である。しかし、本願優先日前公知である特開平11-266864号公報及び国際公開第97/32645号パンフレットには、核酸を精製する装置として、核酸を含む試料の供給部、核酸と結合する固相、結合試薬、洗浄液及び溶離液等の試薬を供給する容器、該試薬の廃棄部、核酸を含む試薬の保持部を有する装置が記載されている。してみると、上述した共通する特徴は、本願優先日前公知であるから、先行技術に対する特別の技術的特徴であるとは認められない。

従って、請求の範囲1～19及び請求の範囲20からなる2つの発明群が、单一の一般的発明概念を形成するように連関している一群の発明であるとは認められない。

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあつた。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかつた。

THIS PAGE BLANK (USPTO)